

STANDARDISATION BIOLOGIQUE DE LA MULTIPONCTURE

THESE

*présentée à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon
présentée et soutenue publiquement
le 29 Juin 1965
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie, par*

Alain MÉRIEUX

né le 10 Juillet 1938

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie
des Hôpitaux de Lyon



LYON
Imprimerie Sallaz
16, RUE BARODET

1965

STANDARDISATION
BIOLOGIQUE
DE LA MULTIPONCTURE

STANDARDISATION BIOLOGIQUE DE LA MULTIPONCTURE

THESE

*présentée à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon
présentée et soutenue publiquement
le 29 Juin 1965
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie, par*

Alain MÉRIEUX

né le 10 Juillet 1938

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie
des Hôpitaux de Lyon



LYON
Imprimerie Sallaz
16, RUE BARODET

1965

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyens Honoraires : M. J. LÉPINE, Membre de l'Institut.
M. H. HFRMANN, Correspondant de l'Institut.

Doyen : M. J.-F. CIER.

Assesseurs : MM. M. LEVRAT,
L. REVOL.

Professeurs Honoraires

MM. PATEL, LÉPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATÉ, MARTIN,
GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET, POLLOSSON.

Professeurs

MM. CIBERT	Clinique urologique
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique
DECHAUME	Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale
CHAMBON	Chimie organique et toxicologie
WERTHEIMER	Clinique chirurgicale P
PAUPERT-RAVAULT	Clinique médicale B
FROMENT	Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires
CROIZAT	Clinique médicale C
ENSELME	Chimie biologique et médicale
MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A
REVOL	Pharmacie galénique
PIGEAUD	Clinique obstétricale
BOURRET	Médecine du travail
LEVRAT	Clinique médicale A
SOHIER	Hygiène et action sanitaire et sociale
NETIEN	Botanique et cryptogamie
BERTRAND	Clinique chirurgicale C
BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique
DREYON	Pharmacie chimique et pharmacologie
ROCHE	Médecine légale et déontologie
COUDERT	Parasitologie et pathologie exotique
MOUNIER-KUHN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie
PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique
THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie
BRUN	Clinique de pneumo-phthisiologie
CREYSSEL	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique
DARGENT	Clinique carcinologique
GUICHARD	Anatomie pathologique
GIRARD Paul	Pathologie générale et expérimentale
LATARJET	Anatomie
PEYCELON	Pathologie chirurgicale
GIRARD Marcel	Clinique médicale D
VACHON	Pathologie médicale
GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires
PAPILLON	Radiologie
JEUNE	Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge
GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale
MONNET	Bactériologie
BANSSILLON	Physiologie et pathologie obstétricales
CHATONNET	Physiologie B
GUINET	Clinique endocrinologique
TRILLAT	Clinique de chirurgie orthopédique
FREIDEL	Clinique stomatologique
MARION Joseph	Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles
DORCHE	Matière médicale et législation pharmaceutique
DUMONT Louis	Histologie et embryologie
PERROT	Chimie
CIER J.-F.	Physiologie A
PERRIN J.	Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire
MICHAUD Pierre	Clinique de chirurgie cardiaque
SARROUY Charles	Clinique médicale infantile
MATHIEU	Clinique gynécologique
X...	Clinique des maladies infectieuses
X...	Biologie médicale et pharmacodynamie
X...	Thérapeutique

Professeurs à titre personnel

MM. BERGER	Physique nucléaire appliquée à la médecine
BERTOYE	Bactériologie
MANSUY	Neuro-chirurgie
COLLET	Chimie générale et pharmaceutique
LACROIX	Hygiène et climatologie
LIARAS	Clinique chirurgicale propédeutique
LECUIRE	Neuro-chirurgie
REVOL	Médecine générale
GOINARD	Thérapeutique chirurgicale
CIER André	Pharmacie chimique et pharmacologie
PONT Maurice	Médecine générale
TRAEGER	Médecine générale

Professeurs sans chaire

MM. ROMAN	Parasitologie
FEROLDI	Anatomie pathologique
MORET	Physique biologique
ODDOUX	Botanique et cryptogamie
DE SOLLIERS	Chimie analytique
DESPIERRES	Médecine générale
GARIN	Parasitologie
TOLOT	Médecine du travail

Maîtres de conférences agrégés titulaires

MM. CREYSSEL Roger	Chimie biologique
THIVOLET	Hygiène
PINET	Electro-radiologie
GUYOTAT	Neuro-psychiatrie
DESCOTES	Chirurgie générale
JOUVET	Pathologie expérimentale
PEYRIN	Physique biologique
TOMMASI	Anatomie pathologique
BUFFARD	Electro-radiologie
LEJEUNE	Médecine générale et thérapeutique
DE MOURGUES F.	Stomatologie
NAUSSAC	Maladies infectieuses
REBOUILLAT	Chirurgie générale
ROMAGNY	Pédiatrie
DELAHAYE	Médecine générale
DELEUZE	Anesthésiologie
GIRAUD	Electro-radiologie diagnostique et thérapeutique
MICHEL	Anesthésiologie
FRANCOIS	Pédiatrie et puériculture
MICHOULIER	Chirurgie générale
COLOMB	Dermatologie
LAMBERT	Médecine générale
FRIES	Médecine générale
GILLY	Pédiatrie
ROBERT	Médecine générale
BOUCHET	Anatomie
BÉTHENOD	Pédiatrie
GERMAIN	Immunologie, sérologie, hématologie
KALB	Pneumo-phthisiologie
LARBRE	Pédiatrie
SOUSTELLE	Chirurgie générale
VIALA	Médecine générale
VINCENT	Bactériologie, parasitologie, virologie
COLIN	Médecine légale

Maîtres de conférences-agrégés stagiaires

MM. FAVRE-GILLY	Hématologie
GIROD	Histologie et embryologie
GRAS	Chimie biologique
MALLEIN	Chimie analytique
RIFFAT	Hygiène
FAUCON	Biologie médicale et pharmacodynamie
FLANDROIS	Physiologie
VIALIER-RAYNARD	Bactériologie
ROLLET	Pharmacie galénique

Agrégés en exercice

MM. BONAMOUR	Ophtalmologie
DE MOURGUES Georges	Chirurgie générale
DEVIC	Médecine générale
DUMONT Martial	Obstétrique
DURAND	Urologie
FRANCILLON	Chirurgie générale
SAUBIER	Chirurgie générale
SCHOTT	Neuro-psychiatrie
ALLÈGRE	Neuro-chirurgie
CHASSARD	Electro-radiologie
FAYSSÉ	Orthopédie
GAILLARD	Oto-rhino-laryngologie
GARDE	Médecine générale
HUGONNIER	Ophtalmologie
MARET	Chirurgie générale
MORNEX	Médecine générale
NORMAND	Médecine générale
PERRIN André	Médecine générale
DUMAS	Stomatologie
GARMIER	Obstétrique
NOEL	Médecine générale
SCHNEPP	Orthopédie

Examineurs de la Thèse

Président : M. le Professeur J. DORCHE

Assesseurs : MM. L. REVOL - G. DESPIERRES - F. LARBRE

A MES PARENTS

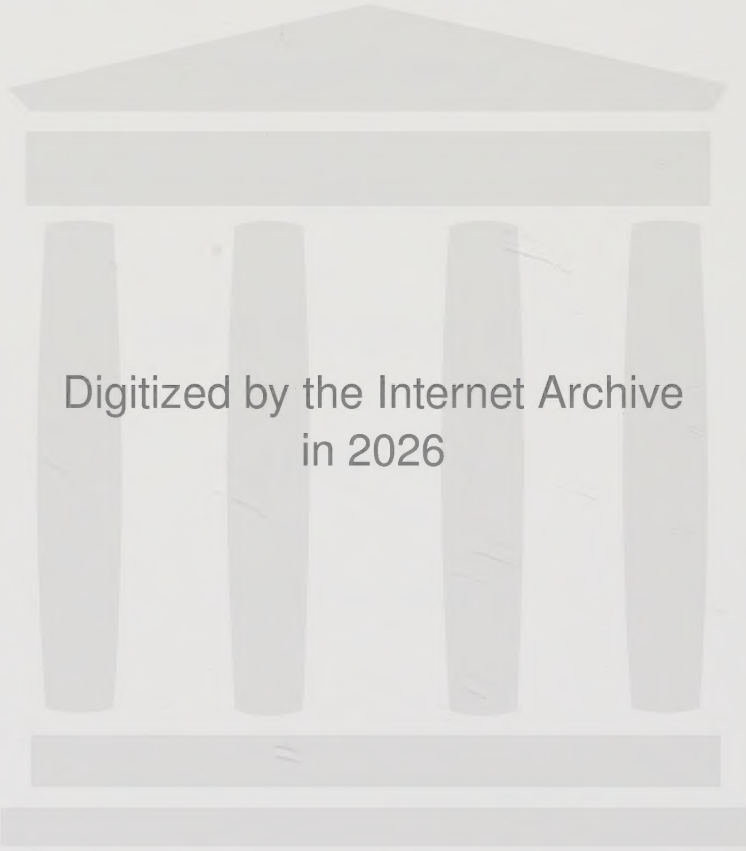
A CHANTAL

A M. LE PROFESSEUR MANSUY

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

EN TÉMOIGNAGE DE TOUTE MON AFFECTION



Digitized by the Internet Archive
in 2026

En remerciant nos maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, nous assurons particulièrement de notre gratitude ceux qui ont accepté de faire partie du jury de cette thèse.

M. le Professeur DORCHE nous a accueilli à l'Hôpital de la Croix-Rousse durant la préparation de notre internat et l'année passée au service des Maladies Infectieuses : il a su nous faire aimer l'hôpital.

M. le Professeur REVOL nous a fait bénéficier, tout au long de nos études, de sa riche expérience d'enseignant et de sa vaste culture d'humaniste.

Nous sommes heureux de pouvoir les associer tous deux dans le témoignage de notre sincère admiration et profonde gratitude.

C'est essentiellement à M. le Professeur DESPIERRES et à M. le Professeur LARBRE que nous devons l'expérimentation clinique de la tuberculisation et de la vaccination antivariolique par multiponcture. Nous sommes sensible à l'honneur qu'ils veulent bien nous faire en acceptant de siéger au jury. Nous les remercions de leur bienveillance et les assurons de notre affection.

Nous assurons de notre reconnaissance, M. le Docteur TRIAU et M. GALY qui ont contribué à ce travail et qui nous ont toujours aidé avec un esprit de totale collaboration.

Nous tenons à remercier celles qui ont assuré la rédaction matérielle de ces pages.

Je me permets de reprendre la pensée du savant Charles NICOLLE, déjà citée dans la thèse de Doctorat en Médecine de mon père.

« Ceux auxquels nous devons rendre compte de nos travaux, « la Société, ne nous demandent pas tant de tracer des aperçus « généraux que de trouver quelque chose qui soit pratique pour le « diagnostic, la prévention et le traitement des maladies. »

Nous voudrions suivre la philosophie de cette pensée en présentant une technique originale visant à standardiser le geste de la multiponcture.

Parce que nous sommes convaincus qu'une « bague » en matière plastique, hérissée de pointes, normalise le geste séculaire de la multiponcture, nous lui consacrons notre thèse.

Nous voudrions souligner l'importance des contacts permanents que nous avons du garder, au cours de ce travail, entre les diverses équipes, industrielles, pharmaceutiques, médicales, sans parler de nos rapports constants avec l'Université et les Laboratoires étrangers. Sans cette collaboration, nous n'aurions pu présenter ce travail.

PLAN

I. — HISTORIQUE :

- a) Multipression
- b) Multiponcture
- c) Tine-Test de Rosenthal
- d) Bague de Kravitz.

II. — TECHNOLOGIE DE LA BAGUE :

- a) Description
- b) Moulage
- c) Stérilisation
- d) Conditionnement
- e) Mode d'utilisation.

III. — BAGUE TUBERCULINIQUE :

- a) Préparation et contrôles de la Tuberculine
- b) Expérimentation clinique.

IV. — BAGUE - VACCIN ANTIVARIOLIQUE :

- a) Préparation et contrôles du vaccin antivariolique
- b) Expérimentation clinique.

V. — AUTRES APPLICATIONS DE LA MULTIPONCTURE :

- a) Vaccination antidiphtérique
- b) Vaccination antitétanique
- c) Vaccination antituberculeuse.

HISTORIQUE

Laissant de côté le domaine si particulier de l'acuponcture et de son invention par les Chinois, il y a plusieurs milliers d'années, nous nous arrêterons tout d'abord à Edward JENNER qui, en 1798 (26) dans sa description de la vaccination antivariolique de bras à bras, mentionne l'usage d'une simple lancette pour égratigner ou pour ponctionner la peau. La lancette est ensuite chargée en matériel vaccinal provenant d'un autre vacciné en cours d'évolution et on reporte la lymphe du donneur sur l'érosion cutanée que l'on vient de pratiquer sur le receveur.

Vingt-quatre ans plus tard JENNER (27) modifie sa technique et il recommande d'employer une pointe en ivoire chargée de vaccine.

Dans son manuel de vaccination paru en 1868, SEATON (61) fait état des deux techniques, soit à l'aiguille soit à la lancette.

Mais la première tentative pour introduire des médicaments sous la peau par des multiponctures simultanées est due à BROWN (11) en 1867.

Il faut attendre la publication de LEAKE (31) aux U.S.A. en 1927 pour que s'officialise la pratique de la multiponcture pour la vaccination antivariolique.

L'année suivante TRAMBUSTI (64-65) proposait d'inoculer la tuberculine à l'aiguille. Cette technique italienne devait curieusement prendre le nom d'intra-dermo-réaction finlandaise parce que dans ce pays nordique plusieurs millions de tuberculinations ont été effectuées par le procédé à l'aiguille (57-58). En France la technique de Trambusti a été employée par A. BESSON et R. DASSONVILLE (6) tandis que SOHIER (62) la perfectionnait grâce à une aiguille à pénétration limitée automatique.

Mais c'est en Angleterre avec l'appareil de HEAF (23) que le test tuberculinique par multiponcture a pris son essor en 1951.

Aux Etats-Unis, ROSENTHAL mettait au point le Tine-test (53-54) destiné à simplifier le geste de la tuberculination.

Notre travail personnel a commencé il y a trois ans, dès la publication de Harvey KRAVITZ (30) proposant une bague en matière plastique hérissée de neuf pointes pour la vaccination antivariolique.

De ce bref rappel historique, nous détacherons quatre phases essentielles :

- a) multipression } décrites d'après
- b) multiponcture } PARISH et CANNON (46)
- c) tine-test de ROSENTHAL
- d) bague de KRAVITZ.

A. — INOCULATION PAR MULTIPRESSION (vaccination anti-variolique aux U.S.A. et en Grande-Bretagne).

Cette méthode n'est pas plus difficile à apprendre que la scarification. On place une toute petite goutte de vaccin sur la peau désinfectée. A travers cette goutte et avec la pointe d'une aiguille de Hagedorn, on pratique fermement des « pressions latérales » à la peau. Il convient de tenir constamment l'aiguille en position tangentielle, et de la soulever nettement entre deux pressions. La stérilisation de l'aiguille peut être assurée par flambage dans de l'alcool à 70° C suivi de refroidissement. Dans ces conditions il est nécessaire de disposer de 3 à 4 aiguilles qui serviront chacune à leur tour pour permettre aux autres de se refroidir. Le terme de pression est correct pour désigner la technique. L'aiguille, en effet, doit être rapidement appuyée et enfoncée légèrement mais avec suffisamment de force pour tâter l'élasticité de la peau ; il ne faut pas faire un geste trop vigoureux au point de faire perler le sang. A chaque pression, une portion d'épiderme est forcée par la pointe de l'aiguille et le vaccin est ainsi inséré dans les couches les plus profondes de l'épiderme. Pour la primo-vaccination à l'âge scolaire, on pratique de 6 à 10 pressions, tandis que pour les revaccinations une trentaine de pressions sont nécessaires. Etant donné que les bébés sont moins sensibles à la vaccination que les sujets plus âgés, on recommande une trentaine de pressions pour la primo-vaccination des tout petits. Cependant, REES (47) considère que le nombre exact des pressions est peu important et que dix pressions sont suffisantes pour toutes les revaccinations de même que pour toutes les primo-vaccinations à condition d'être pratiquées avec fermeté. La surface de vaccination ne doit pas avoir un diamètre supérieur à 3 mm et après la vaccination tout excès de vaccin doit être doucement enlevé de la surface avec une gaze stérile, sans antiseptique ou un tampon de coton. Selon PARISH (45) les principaux avantages de cette technique par rapport à la scarification sont les suivants :

1. Absence complète de douleur ou de saignement durant la vaccination ;
2. Moins de risques d'infection : dans les quelques heures qui suivent il n'y a plus trace de traumatisme ;
3. Réactions moins sévères et moins douloureuses. Cicatrices plus petites ;
4. Quand les pressions sont correctement effectuées on a un pourcentage plus élevé de réussites, c'est-à-dire de « prises ».

B. — INOCULATION PAR MULTIPONCTURE (tuberculination en Grande-Bretagne et aux U.S.A.).

La multiponcture ou test de HEAF (1, 23, 24, 25, 49) est en train de devenir rapidement le test tuberculinique préféré en Grande-Bretagne à cause de sa simplicité, de son acceptation par les sujets et de son caractère reproductible. Il a surtout le grand avantage de n'exiger qu'une seule intervention et il est moins douloureux que la classique intra-dermo-réaction de Mantoux. Les enfants préfèrent nettement le « Heaf test » à l'intra-dermo-réaction. Il est particulièrement recommandé pour les dépistages de masse. L'appareil à multiponcture de Heaf permet de faire six piqûres à une profondeur exactement semblable : 2 mm pour les adultes, 1 mm pour les enfants, selon le réglage de la pièce terminale. La peau est nettoyée avec de l'acétone. On laisse sécher. La tuberculine est ensuite mise en place avec un compte-gouttes standardisé de telle manière qu'une surface de quelques cm² soit recouverte d'un film de tuberculine. On applique alors le plateau terminal de l'appareil sur la surface. Cette application ne doit pas être brutale mais ferme. On appuie sur le déclic qui enfonce les aiguilles. Restériliser l'appareil pour les tests suivants. Il n'est pas nécessaire de mettre un pansement. La lecture a lieu au bout de 72 heures ou, de préférence, au bout de 7 jours quand les résultats sont exactement superposables à ceux de la réaction de Mantoux, deuxième test lu au 3^e jour (1^{er} test = 5 unités de tuberculine, s'il est négatif, on fait 100 unités).

HEAF a insisté sur l'emploi d'aiguilles bien acérées si l'on désirait obtenir des résultats particulièrement nets. On doit constamment avoir à sa disposition quelques aiguilles neuves de telle sorte qu'on puisse envoyer à l'affûtage les aiguilles usagées, c'est-à-dire à peu près tous les 2 500 tests. On recommande aussi de nettoyer de temps à autre les pointes d'aiguilles afin d'éviter le dépôt de carbone dans

la peau. On doit également veiller à ce que toutes les aiguilles pénètrent dans la peau à une profondeur uniforme. Il y a parfois des difficultés de lecture quand les pointes provoquent un saignement ou quand la pénétration des 6 aiguilles est irrégulière.

C. — LE TINE-TEST DE ROSENTHAL

Nous avons vu précédemment que l'insertion dans la peau d'un antigène ou d'un allergène à l'aiguille était une opération délicate, longue et minutieuse, ou bien qu'elle faisait appel à un appareil impressionnant, l'appareil de Heaf. Une solution a été trouvée aux Etats-Unis pour la tuberculinisation, avec le Tine-Test de ROSENTHAL, commercialisé depuis 1961 par les Laboratoires LEDERLE.

C'est un petit inoculateur, muni de 4 pointes métalliques, enduites de tuberculine desséchée.

Parce que ce Tine-Test, prêt à l'emploi et que l'on jette après usage, se rapproche de notre bague tuberculinique, nous allons nous y arrêter quelque peu.

Voici comment il a été présenté par le docteur S. R. ROSENTHAL en 1961 (54). « Il s'agit d'un test transcutané employant une tuberculine quatre fois plus concentrée que la tuberculine brute. Cette tuberculine est séchée sur des pointes d'un disque métallique spécialement construit pour la circonstance. Le disque lui-même est mis en place sur un petit portoir en matière plastique. Les avantages de ce test sont les suivants :

1. Il est facile à employer ;
2. Il est facile à lire ;
3. Il est pratiquement indolore ;
4. Chaque unité « Tine-Test » est petite et compacte, elle réduit les réactions émotionnelles des enfants, surtout si on les compare aux réactions provoquées par les aiguilles et les seringues ;
5. Le test est complet par lui-même. Il n'y a pas à faire appel à d'autre tuberculine, aiguilles, seringues, ou autre matériel d'application ;
6. Chaque unité est stérile, et on la rejette après usage. Elle est immédiatement disponible : nettoyage et stérilisation sont inutiles ;
7. On peut interpréter indépendamment la réaction au niveau de chacun des quatre impacts, ce qui augmente largement l'efficacité du test. »

ROSENTHAL décrit ensuite le mode d'emploi du Tine-Test qui est des plus simple : après avoir nettoyé le lieu d'élection avec de l'alcool, on prend le Tine-Test entre le pouce, l'index et le médus et on applique le disque sur la peau, en appuyant fermement jusqu'à ce que les dents percent le revêtement cutané. Les lectures sont faites après 48 heures et 72 heures.

L'interprétation quantitative du test se fait de la manière suivante :

- Négatif : pas de lésion ou bien lésion quelconque, non indurée, qui peut être une simple hyperhémie ou une discrète hémorragie capillaire.
- Douteux : (mais à classer dans la catégorie négative) discrète élévation et lésion légèrement indurée, mesurant moins de 2 mm de diamètre.
- Positif : une ou plusieurs papules de 2 mm de diamètre. Dans la catégorie positive on distingue :
 - (+) : papules discrètement indurées mesurant 2 mm de diamètre ;
 - (++) : 1 ou plusieurs papules moins discrètement indurées, de 3 à 4 mm de diamètre ;
 - (+++): 2 ou plus de 2 papules confluentes. Dans ce cas on mesure avec précision la largeur et la longueur de la réaction.

Enfin ROSENTHAL décrit l'expérimentation clinique portant sur 710 sujets d'âges différents et de sensibilités à la Tuberculine différentes (sujets vaccinés au B.G.C. et malades de sanatorium). Il compare les résultats obtenus avec le Tine-Test, la classique intradermo-réaction de Mantoux et le timbre tuberculinique. Il conclut ainsi : « Contrastant avec le Patch-Test de Vollmer (timbre tuberculinique) qui devient moins sensible en fonction de l'âge du sujet, le Tine-Test et la réaction de Mantoux sont en excellente corrélation dans tous les groupes d'âges. Le fait qu'une unité-test complètement séparée est employée pour chaque individu, élimine les risques de l'hépatite infectieuse. »

Par la publication ci-dessus datant de quatre ans déjà, le docteur ROSENTHAL a donné le départ à une nouvelle méthode simplifiée de recherche de l'allergie tuberculinique. La multiponcture au Tine-Test se répand peu à peu à travers tout le territoire des Etats-Unis, donnant les plus grandes satisfactions, comme en témoigne toute une série de publications (2, 12, 13, 33, 36, 37, 56).

D. — LA BAGUE DE KRAVITZ

L'appareil de Kravitz diffère de celui de Rosenthal par plusieurs caractéristiques :

1. L'idée originale a été de réaliser un petit dispositif pour multipression ou multiponcture qu'on ne tienne plus entre le pouce et le groupe index - médium, mais dont on arme son pouce. Cette différence apparemment insignifiante joue, en pratique, un rôle considérable pour l'efficacité du geste et de l'impact.

2. Cet auteur a, comme nous le verrons, très vite rejeté les piquants métalliques, considérés comme impressionnants et souvent douloureux. KRAVITZ a eu l'idée de faire appel à des piquants en matière plastique, très différents et beaucoup moins inquiétants.

3. Enfin, tandis que ROSENTHAL mettait au point son Tine-Test pour la Tuberculine (4 pointes de 2 mm de longueur), KRAVITZ étudiait une bague comprenant 9 pointes et destinée à la vaccination antivariolique.

Dans sa publication initiale (30), KRAVITZ présente l'étude comparative des résultats de vaccinations antivarioliques obtenus sur plus de 300 enfants, avec divers scarificateurs, métallique ou plastique et avec dépôts du vaccin soit sur la peau, soit sur le scarificateur.

Ces résultats peuvent être condensés dans le tableau de la page suivante :

Gr.	Dépôt vaccin	Type de scarificateur	Nombre sujets	Nombre réussites	Nombre échecs	% prises	Dimens. cicatrice mm	Moy. * dimens. cicatrice mm	Déviati on standard (7)
I.	Sur la peau	Métallique : 9 pointes 1,5 mm sur base 3,5 mm de côté, collé sur sparadrap.	63	44	19	69,8	4 - 7	5,1	1,15
II.	Sur la peau	Métallique : 9 pointes 2,1 mm sur base 2,9 mm de côté, collé sur sparadrap.	62	56	6	89,2	3 - 5	3,6	0,67
III.	Sur le scarificateur	Métallique : 9 pointes 2,1 mm sur base 2,9 mm de côté, collé sur sparadrap.	122	119	3	97,5	3 - 5	3,5	0,72
IV.	Sur le scarificateur	Plastique : 9 pointes 2,1 mm sur base 2,9 mm de côté, collé sur sparadrap.	50	48	2	96	3 - 6	3,8	0,76
V.	Sur le scarificateur	Plastique : 9 pointes 2,1 mm sur base 2,9 mm de côté, incorporé dans bague plastique.	40	40	0	100	3 - 5	3,6	0,74
VI.	Sur le scarificateur	Idem. IV (REVACCINATION)	17	16 (réaction d'immunité)	1	93	—	—	—
contrôles	Sur la peau	Aiguille métallique	62	58	4	93,1	3 - 9	6	1,9

Ayant argumenté et discuté les résultats exprimés dans ce tableau, KRAVITZ conclut : « Le pourcentage des prises avec le scarificateur expérimental chargé en matériel vaccinal (groupe III, IV, V) est plus élevé que par la classique méthode des multipressions, bien que la différence ne soit pas statistiquement significative. Le nouvel appareil permet une scarification uniformément plus petite et esthétiquement supérieure. Ce procédé élimine toute crainte chez les enfants. La technique que nous proposons supprime l'appréhension qui se manifeste chez les jeunes sujets à la vue des habituelles aiguilles pour vaccination.

D'ailleurs, notre technique est beaucoup moins douloureuse étant donné que les pointes sont conçues plus pour être pressées dans l'épiderme que pour faire une effraction dans le derme. On peut aisément vacciner un sujet dans tous les groupes d'âges en 2 à 3 secondes. »

C'est essentiellement d'après cette excellente étude que nous avons effectué le travail exposé dans les chapitres suivants.

TECHNOLOGIE DE LA BAGUE

L'idée originale de KRAVITZ fut de fixer les pointes sur le pouce du médecin, facilitant ainsi le geste de la multiponcture. Il s'agissait, au tout début, de pointes métalliques, incorporées à un morceau de sparadrap fixé au doigt de l'opérateur (29).

Pour des raisons évidentes de commodité, tant au point de vue fabrication qu'au point de vue reproductibilité des résultats, KRAVITZ et ses collaborateurs se sont orientés vers la matière plastique et ont ainsi pensé à mouler en une seule pièce l'ensemble bague-pointe.

Nous avons nous-mêmes modifié cette bague en lui ajoutant un petit tuyau en chlorure de polyvinyle s'encastant autour des pointes et contenant l'antigène ou l'allergène.

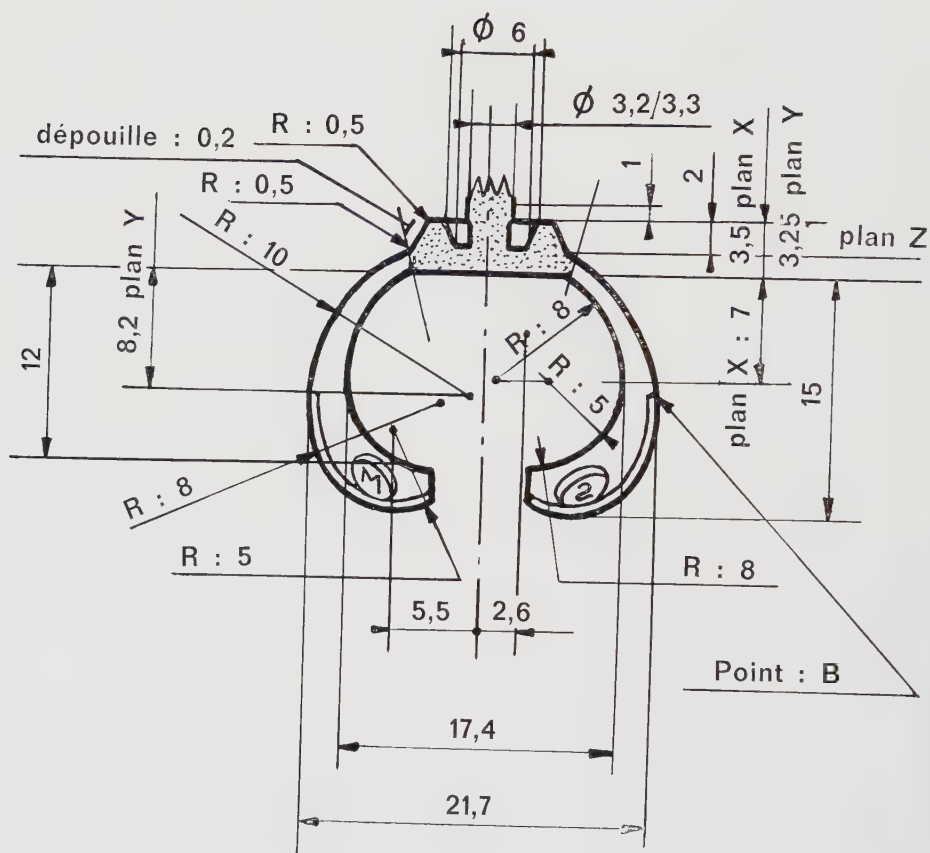
Dans ce chapitre, nous étudierons successivement :

- a) la description de la bague,
- b) le moulage,
- c) la stérilisation,
- d) le conditionnement,
- e) le mode d'utilisation.

A. — DESCRIPTION DE LA BAGUE

Il s'agit, comme le montrent les schémas, d'une pièce cylindrique de consistance relativement souple, dont le diamètre intérieur est sensiblement égal à la dimension du pouce. Elle comporte en sa partie supérieure centrale une sorte de petite tablette rigide où viennent reposer des pointes de même dimension. Autour de ces pointes, nous avons creusé une gorge dans laquelle viendra s'encaster un tuyau en plastique. Ce tuyau sera ensuite chargé du produit que l'on désire faire pénétrer par voie intra-dermique. Il devient ainsi une sorte de micro-réservoir.

Le diamètre intérieur de la bague est de 1,74 cm, le diamètre extérieur atteignant 2,17 cm.



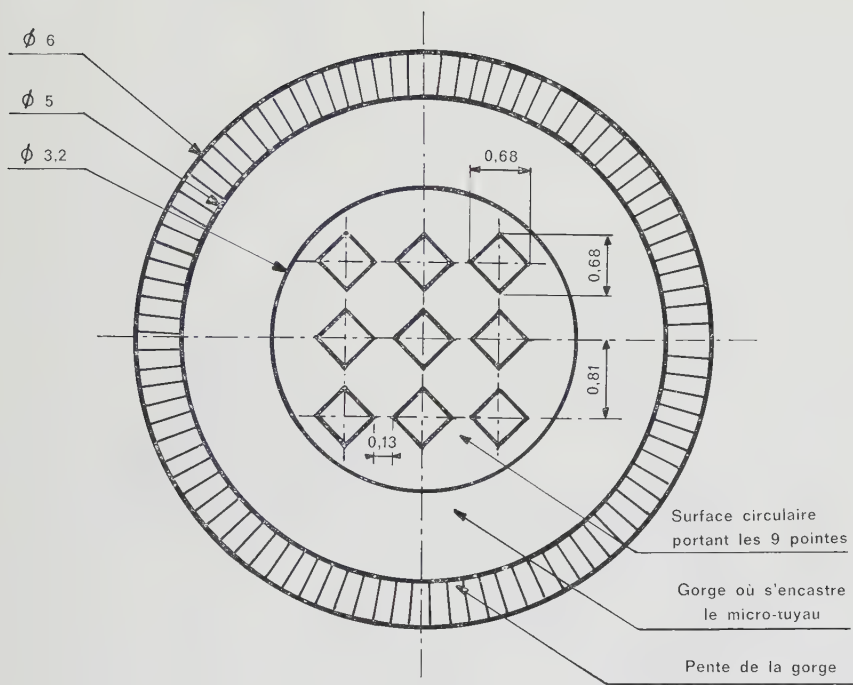
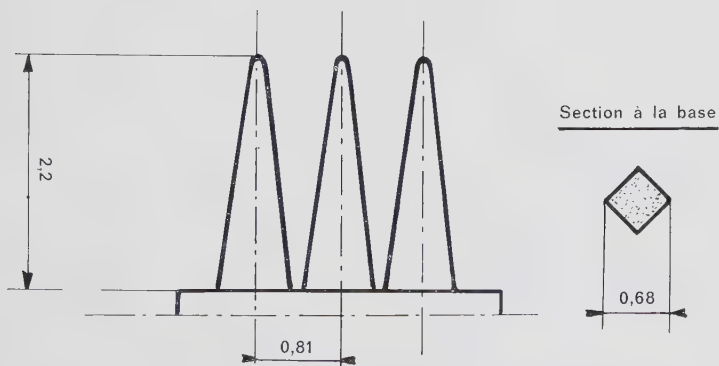
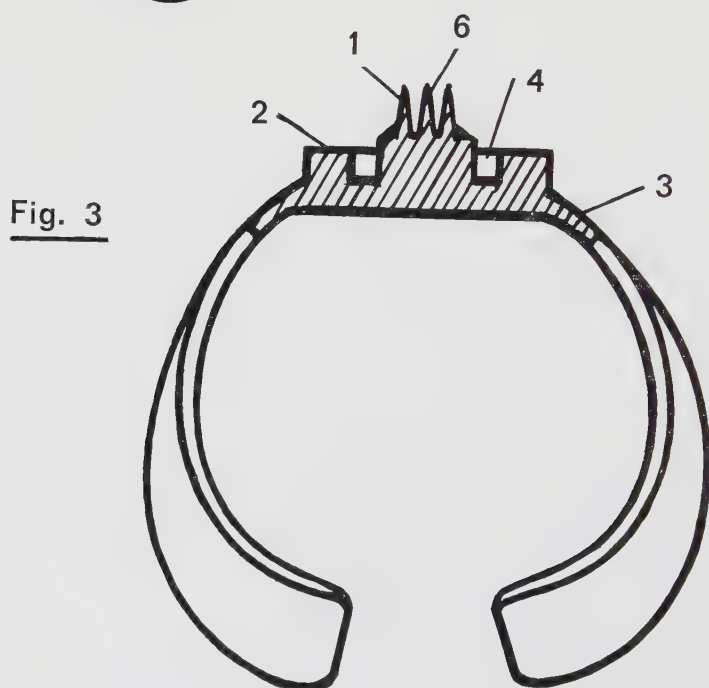
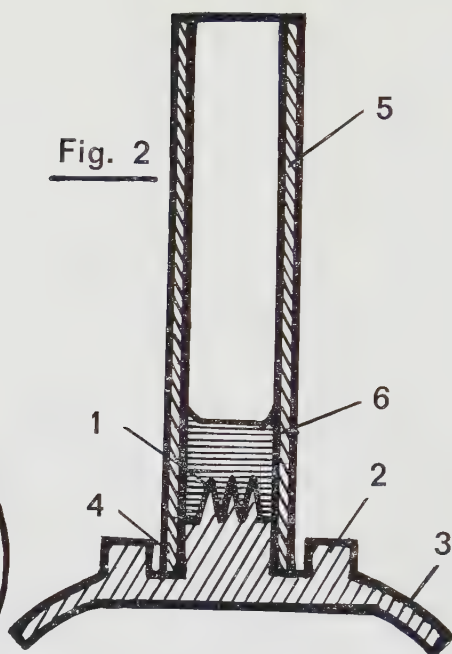
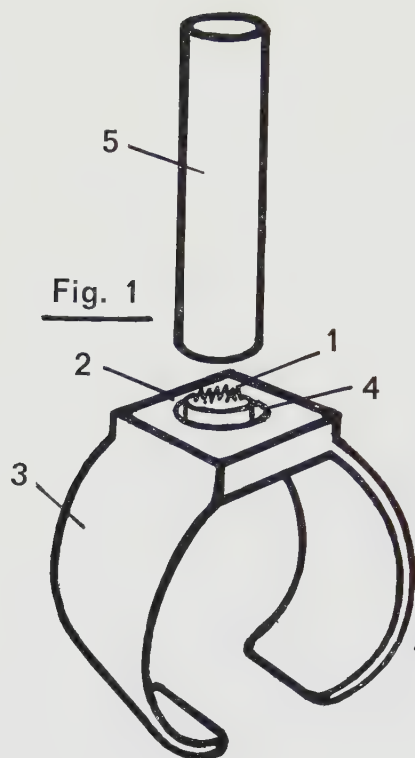


Schéma des pointes et de la gorge où s'encastre le micro-tuyau



Détail des dents



Ensemble BAGUE - TUYAU

La tablette supérieure a une forme de carré dont les angles sont légèrement obtus et dont les côtés mesurent 9,5 mm.

Les pointes sont au nombre de 9, réparties régulièrement en trois rangées de 3. Elles ont une hauteur de 2,2 mm, leur section de base a un diamètre de 0,68 mm, l'espacement entre chaque base étant de 13/100 de mm. Chacune de ces pointes est une pyramide très étirée dont le sommet s'encastrent dans un angle aigu de 12°. Les neuf pointes reposent au centre de la tablette, occupant ainsi un cercle de 3,2 mm de diamètre. Alors que la publication de KRAVITZ montre que les bases des pointes s'opposent par leurs côtés, c'est au contraire par leurs arrêtes que les piquants de notre bague se rapprochent les uns des autres.

La gorge qui entoure ces pointes a une largeur de 1 mm. Nous n'insisterons pas sur le tuyau qui est en chlorure de polyvinyle de qualité semblable à celle des nécessaires de transfusion, répondant ainsi aux normes de la qualité médicale. Ce tuyau de couleur transparente cristal a une longueur de 24 mm ; il est évidemment indispensable que son diamètre intérieur s'adapte étroitement à la gorge.

Etude de la matière première

Il est par contre nécessaire d'insister sur la matière première de la bague, spécialement dans l'étude de sa non toxicité.

Lors des premiers essais, nous avons opté pour du plexigum 7 N, mais cette matière première dut être abandonnée par suite de sa trop grande souplesse. Les pointes avaient en effet tendance à se rompre au moment de l'impact. Il en fut de même pour l'Aldulite D.

Notre choix s'est finalement porté sur la Lucite 140. Il s'agit d'une résine acrylique, fournie par DUPONT de NEMOURS, sous le nom de Lucite 140, couleur 56 white. C'est un poly-méthacrylate de méthyle de densité 1,18, ayant un indice de réfraction de 1,49, insoluble dans l'eau, les alcools et les hydrocarbures aliphatiques, et soluble dans un assez grand nombre de solvants organiques (cétones, esters, hydrocarbures aromatiques). Les bagues moulées avec cette matière sont d'une belle couleur blanc opalescent, et donnent entière satisfaction à la fois par leur élasticité (mise en place autour du pouce) et par leur résistance (excellente pénétration des pointes au cours de l'impact).

Toxicité

Il était nécessaire de vérifier l'inocuité totale de cette matière plastique, les pointes étant destinées à une inoculation.

a) Nous trouvons dans un récent ouvrage de René LEFAUX (32) un chapitre des plus rassurants sur sa bonne tolérance. Le polyméthacrylate de méthyle a été étudié depuis 1941 par un très grand nombre d'auteurs, cités par Lefaux, qui ont tous conclu à sa non toxicité.

SOHLER, LOTHROP et FORBES, puis SHELDON et MAC CRAIG utilisent des plaques de lucite greffées dans la boîte crânienne. KLEINSCHMIDT, BECH, RUSSEL, SMALL et GRAHAM emploient des plaques d'acrylique en implantation crânienne chez le lapin.

En 1947, CORONEL pratique des implantations de résine acrylique sur des cobayes. En 1952, DUGOIN et coll. réalisent des intubations aortiques chez le chien à l'aide de tubes de Lucite. Tous les auteurs reconnaissent l'excellente tolérance de la résine acrylique.

« In vitro », CORONEL a prouvé la non toxicité du polyméthacrylate de méthyle.

b) Les bagues moulées en polyméthacrylate de méthyle subissent au laboratoire les divers contrôles prescrits par le Codex pour les récipients et accessoires en matière plastique.

On prend « 30 g de bague » auxquels on ajoute 300 ml d'eau distillée, on porte à l'autoclave à 120° C pendant 45 minutes. Sur le soluté de récupération que l'on concentre au 1/5, on pratique la recherche d'arsenic et de métaux lourds, cette recherche devant s'avérer négative. Après minéralisation de ce soluté de récupération, on recherche l'étain, recherche qui s'avère, elle aussi, négative.

On effectue des essais de toxicité : On prend « 8 g de bague » auxquels on rajoute 50 ml de sérum physiologique, on porte 45 minutes à l'autoclave à 120° C. Du soluté de récupération on injecte 1 ml par voie intraveineuse à 5 souris qui ne devront présenter aucun signe d'intoxication dans les 4, 24 et 48 heures suivantes.

Avec le même soluté, on recherche les substances pyrogènes sur lapins.

On procède également à une vérification de la neutralité de la matière plastique sur le même soluté (bagues - eau distillée après autoclavage) on constate une légère acidité avec virage en présence de rouge de méthyle par addition de 0,05 ml de soude N/100.

c) Nous avons effectué en milieu hospitalier des centaines d'impacts à la bague nue, sur des sujets de conditions et d'âges différents. Nous n'avons jamais observé la moindre réaction locale ou générale.

Ces essais cliniques, qui viennent compléter les divers contrôles effectués au laboratoire, nous permettent d'affirmer la non-toxicité absolue des bagues moulées en polyméthacrylate de méthyle.

B. — LE MOULAGE

La description de la bague a montré qu'il s'agit d'une véritable « pièce d'horlogerie » dont chaque dimension doit être scrupuleusement respectée.

Après deux essais infructueux, nous avons pu réaliser un moule à six cavités. Le moulage de cette bague * est un moulage à injection, c'est-à-dire qu'il consiste à ramollir ou à gélifier les granulés de matière plastique dans le pot de plastification de la presse, pour l'injecter ensuite, sous pression, dans le moule fermé sous haute pression ; le moule une fois refroidi fixe ces pièces dans leur forme initiale.

Dans le moulage des bagues, la gélification de la matière s'effectue, comme le montre le schéma, par brassage, à l'aide d'une vis tournante, à l'intérieur du pot de plastification. Cette vis est équipée d'un clapet qui fait fonction de piston pour injecter la matière dans le moule. L'opération est effectuée sur presse « Stubbe » 30/60 à vis. La vis a un diamètre de 33 avec clapet.

Quatre paramètres fixent les conditions de moulage :

1. La température du pot qui s'étendra, selon les zones, de 195 à 220 et 240° C ;
2. La pression d'injection sur la matière — 1 070 kg par cm² — cette pression est assez élevée pour le type de presse utilisée ;
3. Le temps de pression sur la matière qui est de 3 secondes ;
4. La vitesse d'injection qui est très rapide et le temps de refroidissement de la pièce dans le moule qui est de 12 secondes, la température du moule étant de 50° C environ.

Ces divers paramètres permettent de donner aux pointes une longueur déterminée, longueur qui doit être de 2,2 mm.

Une fois ces bagues moulées, on procède à un dernier polissage, qui, à l'heure actuelle, se pratique encore manuellement et à une inspection rapide de ces bagues, afin de voir si les pointes n'ont pas été altérées lors du moulage.

Une fois vérifiées, les bagues sont chargées du micro-tuyau en chlorure de polyvinyle ; cet encastrement du tuyau sur la bague se fait de façon semi-manuelle, avec une inspection et un contrôle individuels de chaque bague et micro-tuyau.

* Nous tenons à remercier la Société Plastic Omnium, de Langres, qui effectue toutes les opérations de moulage et auprès de laquelle nous avons toujours trouvé un esprit de complète collaboration.

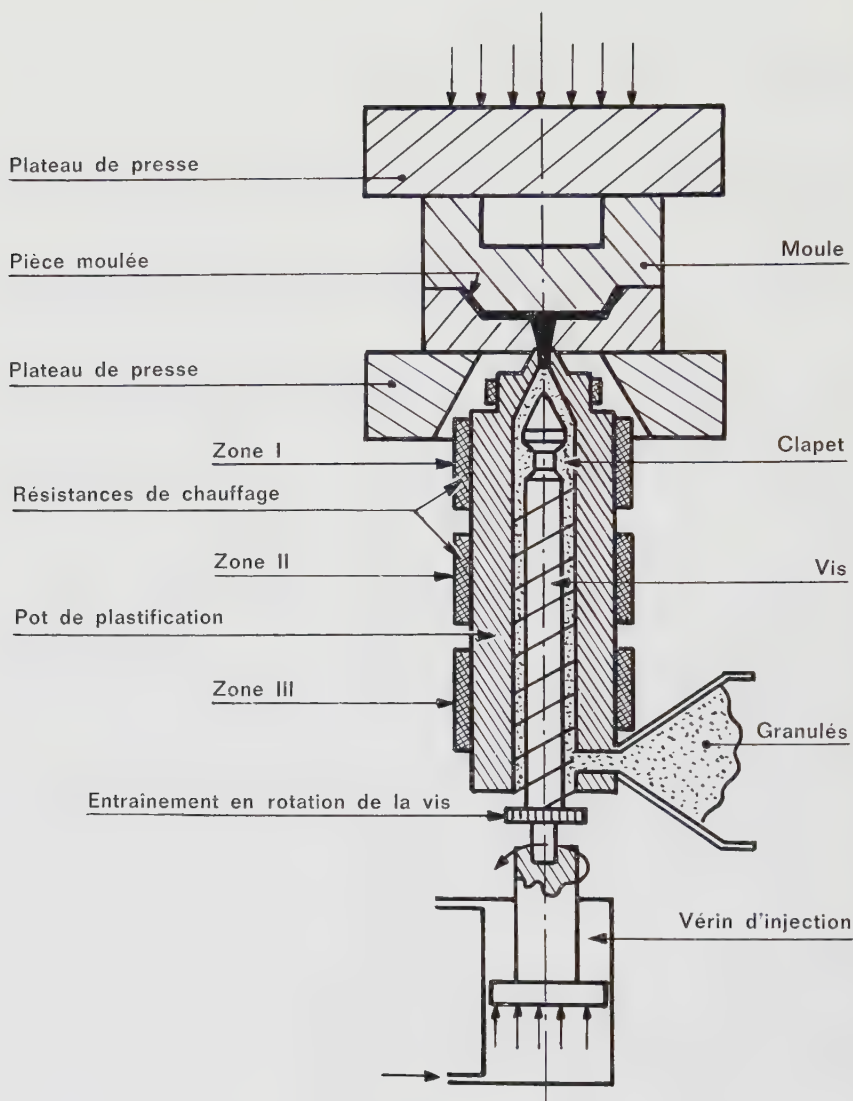


SCHÉMA DE PRINCIPE DU FONCTIONNEMENT DE LA PRESSE A VIS

Les contrôles se font statistiquement par examen d'un certain pourcentage de bagues, à travers un dispositif optique comprenant une source de lumière intense. On vérifie l'intégrité des pointes : conformité en nombre et en dimension.

C. — STÉRILISATION A L'OXYDE D'ÉTHYLÈNE

Les bagues arrivent aux laboratoires, le tuyau étant ainsi déjà incorporé. Après dépoussiérage, nous effectuons la stérilisation, réalisée à l'oxyde d'éthylène. Nous avons choisi ce gaz par suite de son excellente pénétration à travers toute matière plastique.

a) Oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène, 1-2-oxydo-éthane, 1-2-époxiéthane ou oxirane est un gaz incolore, aisément liquéfiable. Son odeur ressemble à celle du chloroforme. Ses constantes physiques sont les suivantes : densité 1,52 - poids moléculaire 44,05.

Il est très soluble dans l'eau et les solvants organiques.

Il présente la particularité d'être explosif : à l'état gazeux, il forme avec l'air, à partir de la concentration de 3 % en volume, un mélange explosif.

Du point de vue chimique, c'est un produit très réactionnel. C'est un réactif d'alkylation : au contact de l'eau ou de l'humidité, il est hydrolysé en éthylène glycol. Cette réaction lente devient rapide en présence de sels minéraux.

L'intérêt en stérilisation est dû à son pouvoir bactéricide. Son efficacité sur les insectes, les parasites, les moisissures, les champignons, les bactéries, les rickettsies et les virus est également démontrée. Il est sporicide, comme l'ont montré les tests effectués sur les spores de bacillus globigii.

Trois facteurs influencent son pouvoir bactéricide : la température, sa concentration et l'humidité.

— Une température optima est de l'ordre de 40 à 50° C.

- Plus l'oxyde d'éthylène est concentré, plus le temps de contact est minime.
- Une certaine humidité est nécessaire sans laquelle la réaction d'alkylation se produit difficilement : il est d'usage de travailler entre 20 et 40 % d'humidité relative.

Il est à noter que l'oxyde d'éthylène provoque une transformation de la structure même de certains médicaments. Il inactive en particulier différents virus, c'est le cas de la Vaccine. Pour cette raison, nous utilisons l'oxyde d'éthylène sur la bague et le micro-tuyau seulement. En effet, nous ne pouvons stériliser le produit fini, c'est-à-dire, la bague chargée de tuberculine ou de vaccin antivariolique.

b) Utilisation

L'oxyde d'éthylène employé comme agent de stérilisation s'utilise de façon courante, mélangé à un autre gaz. Les travaux allemands et américains ont retenu essentiellement deux mélanges :

- | | | |
|------------------|----------------------|-------|
| — le carboxide : | oxyde d'éthylène | 10 % |
| | gaz carbonique | 90 % |
| — le cryoxide : | oxyde d'éthylène | 11 % |
| | hydrocarbure (Fréon) | 89 %. |

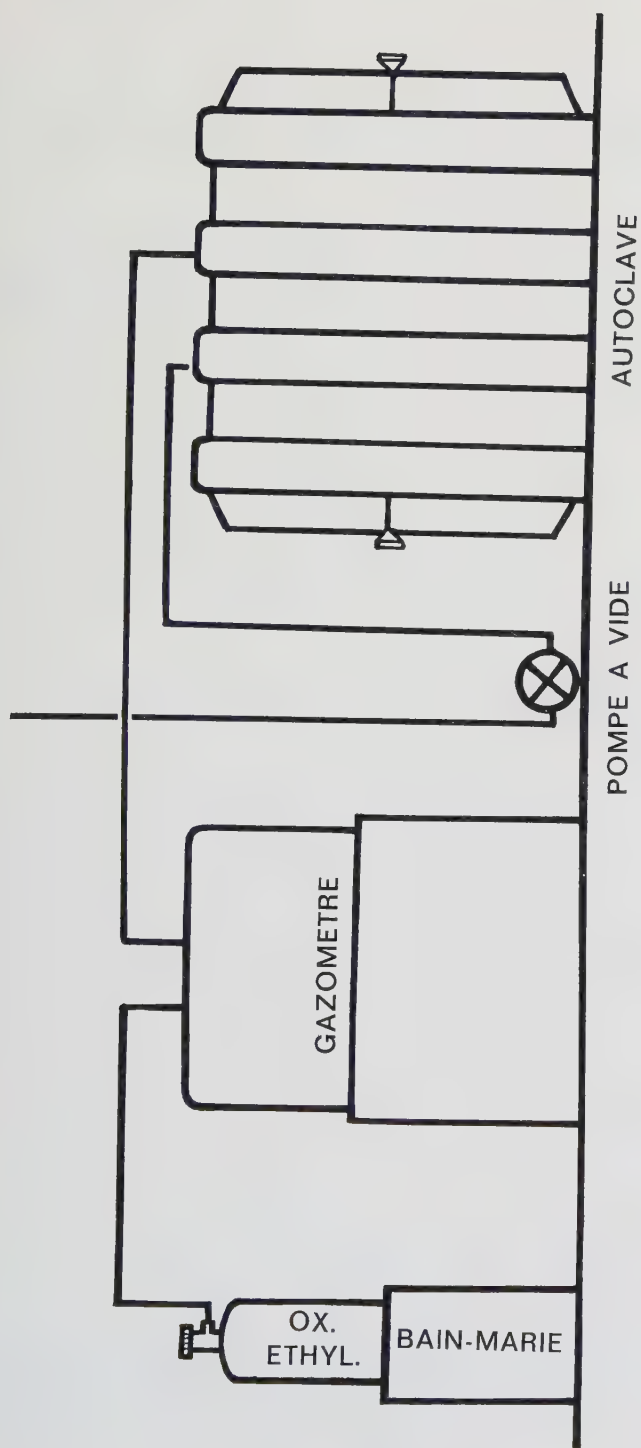
Ces mélanges offrent évidemment l'avantage d'une manipulation plus facile due à la suppression des risques d'explosion. Nous nous sommes cependant adressés à l'oxyde d'éthylène pur. Le carboxide en effet nécessitait l'installation d'appareils étrangers d'un prix très élevé. Le cryoxide altérerait la structure même du polyméthacrylate de méthyle.

Nous avons dû fixer expérimentalement les différentes normes de cette stérilisation à l'oxyde d'éthylène pur : temps de contact, taux d'humidité, température. Des essais portant sur plus d'un an, une série d'améliorations de l'appareillage, nous ont permis cette mise au point.

c) Appareillage

L'installation utilisée comprend :

1. Une réserve d'oxyde d'éthylène, constituée par une bouteille en acier, contenant l'oxyde d'éthylène à l'état liquide sous une légère



Appareil pour stérilisation à l'oxyde d'éthylène

pression de gaz, la tension de vapeur étant de 0,8 kg à 25° C et 3 kg à 50° C. Cette bouteille est placée dans un bain-marie à chauffage régulé pour accélérer le passage de l'oxyde d'éthylène à l'état gazeux lors du remplissage de l'autoclave.

2. Un gazomètre de 1 000 litres permettant le stockage de l'oxyde d'éthylène à l'état gazeux. L'étanchéité de la partie inférieure de la cloche est réalisée à l'aide d'un bain de glycérine, laquelle est protégée de l'hydratation par la vapeur d'eau ambiante, grâce à une couche d'huile minérale.

3. Un dispositif de pompe permettant de réaliser le vide dans l'autoclave et servant à évacuer l'oxyde d'éthylène après stérilisation.

4. Un autoclave de capacité 3 m³ réalisé en tôle d'acier et muni de deux portes, l'une donnant directement dans la zone stérile. L'étanchéité des portes est réalisée par gonflement d'un boudin de caoutchouc à l'aide d'air comprimé. L'autoclave possède le long de ses parois extérieures une circulation d'eau chaude destinée à élever la température de l'enceinte durant la stérilisation.

d) Processus de stérilisation

Le matériel à stériliser ayant été introduit dans l'autoclave, les témoins de stérilisation sont placés parmi le matériel et au centre de la partie intérieure de chaque porte. Cet endroit se révèle en effet le moins « chaud » de l'autoclave et de ce fait le plus long à stériliser.

Avant la fermeture des portes, on vaporise de l'eau et on dépose au fond de l'autoclave environ un litre d'eau.

Ceci est destiné à maintenir une humidité relative d'au moins 40 % dans l'autoclave pendant la stérilisation.

L'efficacité de cette méthode a été mise en évidence en disposant expérimentalement dans l'autoclave un hygromètre enregistreur.

Après fermeture des portes et réalisation de l'étanchéité par gonflement des joints, la pompe d'aspiration est mise en fonctionnement jusqu'à l'obtention d'un vide de 40 à 60 mm d'Hg.

Après évacuation de l'air, l'oxyde d'éthylène est introduit dans l'autoclave en le mettant en relation avec le gazomètre de stockage.

L'admission de gaz est arrêtée lorsque la dépression dans l'autoclave est d'environ 300 mm d'Hg, ce qui correspond à une concentration de 950 à 1 000 mg d'oxyde d'éthylène par litre de volume libre de l'enceinte. L'autoclave, chauffé par une circulation d'eau chaude

extérieure, atteint une température intérieure de 40 à 45° C. Dans les conditions précédemment citées, cette température est obtenue 2 à 3 heures après le début de stérilisation, suivant l'importance de la masse de matériel contenu et la température au moment du chargement.

La durée de contact du gaz avec les objets à stériliser est d'environ 15 heures. Ce temps de contact très supérieur au temps minimum nécessaire résulte de l'aménagement des horaires de travail. Le processus de stérilisation débute vers 16 heures, s'effectue de nuit et permet de décharger le matériel stérile le lendemain matin.

Après ce temps de contact, l'oxyde d'éthylène est évacué à l'extérieur dans l'atmosphère à l'aide de la pompe à vide qui réalise une dépression de 40 à 60 mm de Hg.

Cette dépression est maintenue environ 15 minutes puis l'autoclave est remis en pression atmosphérique avec de l'air prélevé dans des locaux stériles, mais néanmoins filtré avant son admission sur des filtres de papier spécial pour l'épuration bactériologique de l'air.

L'autoclave rempli d'air est de nouveau vidé 15 minutes après, maintenu 15 minutes en dépression, remis en pression atmosphérique, puis ouvert.

Ces manœuvres constituent les opérations de rinçage rendues nécessaires du fait de l'absorption d'oxyde d'éthylène par la matière plastique, elles permettent d'éliminer la plus grande partie d'oxyde d'éthylène résiduel, qui, autrement, se dégagerait dans les locaux.

Durant le temps de cette stérilisation, on veillera à détecter l'éventuelle présence d'oxyde d'éthylène dans l'atmosphère proche de l'autoclave. Le test consiste à employer des bandes de papier filtre imprégné d'une solution aqueuse saturée de thio-sulfate de soude et de phénol-phtaléine comme indicateur, de les pendre dans des endroits proches du stérilisateur. Des traces d'oxyde d'éthylène feraient virer au rose les bandes de papier en une à deux minutes.

e) Contrôles de stérilisation

Nous contrôlons la stérilisation par des réactions physico-chimiques et surtout par des contrôles bactériologiques.

Contrôle chimique. Nous plaçons dans des sachets en polyéthylène une solution saturée de chlorure de magnésium avec un taux calculé d'acide chlorhydrique normal et de bleu de Bromophénol

comme indicateur. L'oxyde d'éthylène pénètre dans le sachet et réagit avec le contenu pour donner une réaction alcaline et fait virer l'indicateur au bleu.

Contrôles bactériologiques. On procède soit par stérilisation de germes témoins que nous avons placés préalablement dans l'autoclave, soit par contrôles de la bague elle-même.

Nous avons choisi le *Bacillus thermophilus*, bacille remarquable par sa résistance aux divers agents de stérilisation. On vérifie l'absence de vitalité de ce bacille après les 15 heures de contact.

Les bagues, à la sortie de l'autoclave, sont prélevées et immergées dans les milieux thioglycolate et Sabouraud. On porte des tubes thioglycolate et Sabouraud à 23° C, des tubes thioglycolate à 37° C, durant 7 jours. Aucune culture ne doit se développer.

D. — LE CONDITIONNEMENT

Les bagues et tuyaux ainsi stérilisés passent directement en zone stérile ; il faut prendre soin de leur faire subir une sorte de quarantaine avant de procéder au remplissage des micro-tuyaux. L'isolement qui dure 8 jours laisse s'évaporer l'oxyde d'éthylène résiduel.

Les ensembles « bague-tuyau » ainsi stérilisés vont, après cette quarantaine, être chargés du produit à inoculer.

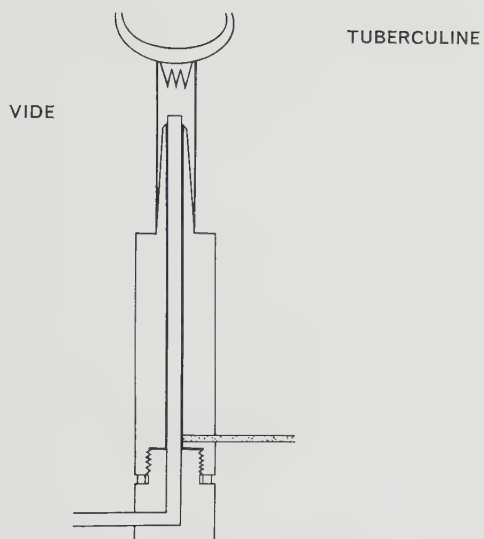
a) Remplissage du tuyau

Les « bagues-microtuyaux » sont mis sur des portoirs de six, et ces chargeurs sont placés sur une machine qui assure une pose exacte des tuyaux. Ils sont emboîtés sur des cônes qui réalisent l'étanchéité. L'intérieur du cône, comme le montre le schéma, contient deux tubes concentriques, un des tubes est relié au vide, l'autre au produit à répartir. Avec un léger décalage, le tuyau est mis en relation avec le vide et le produit.

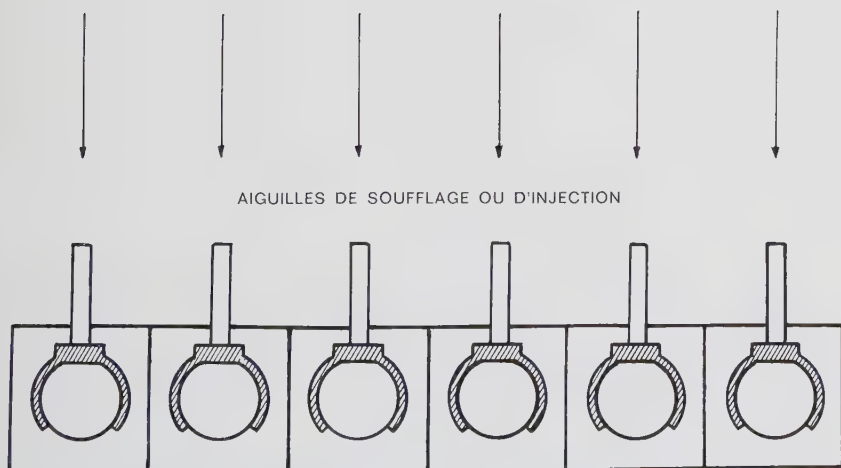
Le remplissage ainsi effectué d'une façon rapide est reproductible, immédiat et le cycle total est très court. On dépose chaque fois une goutte de 0,05 ml.

b) Soudure

Lorsque la goutte du produit à inoculer est introduite dans le fond du microtuyau, elle enrobe les 9 pointes. Nous devons pratiquer la fermeture de l'extrémité supérieure encore libre de ce microtuyau.



Remplissage des bagues



Cette opération se fait par soudure à haute fréquence avec un nombre de 27 méga-cycles, et en générateur haute fréquence d'une puissance de 1 kW. (Dans le cas du vaccin antivariolique, la soudure se fait avec un générateur de 600 W et 125 méga-cycles.) Ces soudures se pratiquent six par six avec un temps de refroidissement sous pression.

c) Montage et scellage de la bague sur carton

La bague se présente donc actuellement comme chargée de son produit à inoculer, qui se trouve dans le microtuyau dont une extrémité est encastrée dans la bague, et dont l'autre est scellée.

Le montage de la bague sur carton est nécessaire pour protéger l'assemblage tuyau-bague lors de la vie commerciale de l'ensemble. Ce montage se pratique dans un local de conditionnement classique ; le microtuyau étant scellé, la stérilité à l'intérieur est donc assurée. La soudure sur carton se fera par simple fermeture du rabat thermocollant.

N. B. - Dans le cas de la bague-vaccin antivariolique, le remplissage se pratique de la même manière, mais le vaccin est maintenu en agitation à une température de -10°C grâce à un frigaton, module thermo-électrique à effet Peltier, sorte de platine refroidissante. La soudure et le moulage sur carton s'effectuent comme pour la tuberculine. La conservation des bagues chargées de vaccin antivariolique est d'une importance fondamentale : ces bagues sont mises au congélateur et la date de péremption du produit (un mois) sera inscrite à la sortie du congélateur par le pharmacien responsable de leur conservation.

Ces bagues ainsi chargées devront évidemment répondre aux divers contrôles d'inocuité et d'activité, contrôles que nous envisagerons au cours de l'étude de la bague tuberculinique et de la bague vaccin antivariolique.

E. — MODE D'UTILISATION

L'utilisation de cette bague est des plus simples :

L'infirmière dégraisse à l'éther ou à l'alcool la face palmaire de l'avant-bras dans le cas d'une tuberculation ou la région deltoïdienne du sujet dans le cas de vaccination antivariolique.

Le médecin après avoir retiré l'ensemble bague-microtuyau du carton, glisse cette bague à son pouce.

Il retire le microtuyau en veillant à ce que la goutte du produit enrobe bien les 9 pointes ; dans le cas contraire, par simple pression sur le microtuyau, il rechargera ces pointes. On appuie fermement

et rapidement sur le lieu d'élection. Un seul impact est nécessaire dans le cas de tuberculation ou de primo-vaccination antivariolique, deux impacts réitérés au même point dans le cas d'une revaccination. On laisse sécher quelques instants avant le rhabillage.

Ce procédé laisse au médecin la liberté complète de ses mouvements et l'enfant n'est absolument pas effarouché par cette bague qu'il ne voit pratiquement pas. L'inoculation par ce procédé n'est absolument pas traumatisante, bien que nous ayons pu démontrer que c'était une inoculation intra-épidermique véritable.

Cette bague, n'étant utilisée qu'une fois, permet de standardiser le geste de la multiponcture, offrant au médecin un produit conservé stérilement.



Utilisation de la bague



TUBERCULINATION PAR MULTIPONCTURE
A LA BAGUE

Nous nous permettrons, après un bref rappel de la préparation de la tuberculine, d'analyser les différents travaux qui ont permis sa mise au point.

A. — PRÉPARATION DE LA TUBERCULINE

Les diverses études cliniques nous ont amenés à concentrer la tuberculine et c'est, en fait, à la néo-tuberculine à 300 000 unités que nous nous sommes adressés (38, 39, 40, 41).

Les souches utilisées sont d'origine humaine (souches P N - D T - C) et bovine (souche Vallée). Ces souches sont entretenues sur milieu de Lowenstein, gélose glycinée et pomme de terre. On repart tous les deux mois du milieu gélose glycinée, et on effectue un passage sur milieu pomme de terre et milieu de Sauton. A partir des voiles obtenus, onensemence sur milieu synthétique de Weybridge (phosphate bi-potassique, sulfate de magnésie, citrate de sodium, citrate ferrique, asparagine, glycérine, glucose). La culture, pratiquée à 38° C, dure 12 semaines. Après les 12 semaines de culture, on stérilise à 100° C à vapeur fluante durant 3 heures. Après filtration sommaire sur filtre-papier, on effectue le titrage en tuberculo-protéines (méthode de Kjeldahl). Le filtrat après détermination de ce titre est ajusté à pH 7 par addition d'acide chlorhydrique, puis on effectue une filtration clarifiante et stérilisante, suivie d'une évaporation dans un concentrateur sous vide à la température la plus basse possible.

On dilue ensuite au titre voulu par addition de glycérine.

Après contrôle et titrage, la néo-tuberculine sera répartie sur les bagues, comme nous l'avons vu au cours de l'étude du conditionnement.

Contrôles des bagues tuberculiniques

Les bagues ainsi chargées de tuberculine devront répondre aux normes de différents contrôles : contrôles physico-chimiques, contrôles de stérilité, épreuves d'innocuité et de non-sensibilisation, contrôles d'activité.

On prélève, stérilement, la néo-tuberculine d'un certain nombre de bagues déjà conditionnées et on pratique les contrôles que nous venons d'indiquer :

α) **Contrôles physico-chimiques.** On effectue le titrage du taux de protéine, la détermination du pH et du taux de glycérine.

β) **Contrôles de stérilité.** Avec la tuberculine provenant de 5 bagues, on ensemence deux tubes de bouillon peptoné, deux tubes de milieu thioglycolate et un tube de milieu Sabouraud.

On porte un tube bouillon peptoné et un tube thioglycolate à 37° C, le tube milieu Sabouraud, le 2^e tube bouillon peptoné et le 2^e tube thioglycolate à 22° C. Au bout de 7 jours, on ne constate aucune culture bactérienne ou fongique.

γ) **Epreuve d'innocuité.** L'injection de néo-tuberculine, sous la peau du cobaye normal, ne devra ni le tuer, ni provoquer chez lui de symptômes sérieux, ni entraîner de perte de poids appréciable dans les 6 semaines qui suivent. L'autopsie des cobayes ne doit révéler aucune atteinte tuberculeuse.

δ) **Epreuve de non-sensibilisation.** On pratique sur 2 cobayes au moins, à trois reprises différentes, et à des intervalles de 8 à 15 jours, une injection intra-dermique de néo-tuberculine diluée. Un mois après la dernière injection, les animaux en expérience ne devront pas répondre de façon différente que des cobayes neufs, de même poids, vis-à-vis d'une nouvelle injection, faite à la même dose et dans les mêmes conditions.

ε) **Contrôle d'activité.** On procède à un titrage préliminaire sur cobayes de la tuberculine. Puis on prend un lot de 8 cobayes, sensibilisés avec une suspension de myco-bactérium tuberculosis. Sur chacun d'eux, on procède à quatre injections. Les préparations injectées sont : du soluté isotonique de chlorure de sodium, une solution de la tuberculine à titrer ayant satisfait au titrage préliminaire, deux doses de tuberculine étalon, choisies de façon à encadrer la valeur obtenue au titrage préliminaire pour la tuberculine à titrer.

Les résultats des tuberculinations seront appréciés par la mesure des diamètres des réactions, les diamètres de réactions obtenues avec la tuberculine à tester étant intermédiaire entre ceux des deux doses étalon. On ne doit pas observer de réaction érythémato-papuleuse au point d'injection du soluté de chlorure de sodium.

B. — EXPÉRIMENTATION DE LA BAGUE TUBERCULINIQUE

Nous voudrions dans ce chapitre analyser les divers travaux qui ont permis la mise au point de cette bague tuberculinique. Nous étudierons les diverses communications :

- Octobre 1961. — MÉRIEUX Ch. : Sur une méthode simplifiée d'administration des divers antigènes et vaccins. Premières applications à la tuberculine et à l'anatoxine diphtérique. III^e Congrès International des Microbiologistes hongrois, Budapest, 3-5 octobre 1961.
- Novembre 1961. — DESPIERRES G., MÉRIEUX Ch. : Sur une méthode de contrôle de l'allergie tuberculinique plus simple et aussi sûre que la classique intra-dermo-réaction. XI^e Congrès National de Tuberculose, Porto Alegre (Brésil), 12-18 novembre 1961.
- Mai 1962. — DESPIERRES G., MÉRIEUX Ch., TRIAU R., ENSELME J. : Un nouveau procédé simple et précis de recherche de l'allergie tuberculinique. Société Française de Tuberculose, 12 mai 1962.
- Septembre 1964. — GRAVELEAU D. : Standardisation de la multipuncture. Application à la tuberculine. Le monotest. V^e Congrès de Pédiatrie du Moyen-Orient et de la Méditerranée, Athènes, 27-30 septembre 1964.
- Résultats inédits aimablement communiqués par Mme le docteur FILLASTRE, Centre International de l'Enfance (février 1963 et avril 1964).

I. En octobre 1961, Charles MÉRIEUX présentait la première communication française (43) concernant cette bague et son application à la tuberculine. On trouvait reproduits les premiers résultats de l'expérience réalisée par M. DESPIERRES sur 46 sujets.

Sur 46 sujets

Résultats	Nombre de sujets
+++	2
++	10
+	22
±	6
0	5
Non vérifiés	1
TOTAL.....	46

+++ = papule de 10 mm ou plus
++ = papule de 5 mm à 9 mm
+ = papule de 2 mm à 4 mm
± = papule de 1 mm

Il peut être précisé d'après ces premiers résultats que :

a) La concordance s'est montrée parfaite entre la bague et l'intra-dermo-réaction à 50 unités ou le timbre tuberculinique type Fort.

b) Lorsque la réaction est négative, il n'y a vraiment aucune trace de papule ; s'il y a une papule, si minime soit-elle, la réaction peut être considérée comme positive.

c) Ces réactions ont été obtenues à la suite d'un impact à travers une goutte de tuberculine brute déposée sur la peau.

d) Les deux résultats +++ concernaient des sujets spontanément allergiques ; les autres des sujets allergiques après B.C.G.

Charles MÉRIEUX concluait en soulignant la simplicité de l'inoculation « l'intérêt de cette nouvelle méthode est surtout de simplifier le travail du médecin praticien : d'un geste naturel il prélève un appareil stérile, dont l'application est tellement simple qu'elle n'effarouche pas l'enfant, et que, tout en ayant les avantages des méthodes par effraction, elle ne provoque aucune effusion de sang ».

II. Au XI^e Congrès National brésilien de la Tuberculose qui se déroulait à Porto Alegre, M. DESPIERRES présentait le procédé à la bague (15, 16) communication suivie de celle faite à la Société Française de la Tuberculose le 12 mai 1962 (17). Parce que ce dernier travail a été le premier publié en France devant un auditoire d'éminents spécialistes phtisiologues, nous nous permettrons d'en citer les passages les plus importants.

« Nous avons jusqu'ici pratiqué 404 tests avec le procédé que nous venons de décrire, chez des sujets dont les âges varient de 3 mois à 25 ans. La majorité des réactions ont été faites comme contrôle après B.C.G. Les résultats peuvent être résumés dans le tableau suivant :

PREMIERS RÉSULTATS GLOBAUX OBTENUS AVEC BAGUE (tuberculine brute)						
Catégories de sujets testés	Nombre de tests	Résultats				
		0	+++	++	+	+
Allergiques certains	24	23				1 (1)
Allergiques spontanés	16	0	12	3		1
Après B.C.G.	364	18	2	47	264	33

Ces résultats n'appellent pas de commentaires particuliers. Nous voulons seulement signaler :

a) que parmi les « anergiques certains » un sujet qui avait une réaction de Mantoux négative à 50 unités et une réaction positive avec notre méthode (induration de 1 mm) avait un test au B.C.G. très positif, donnant ainsi apparemment raison à la « bague » contre l'intra-dermo-réaction de Mantoux ;

b) que les B.C.G. pratiqués remontaient parfois à de nombreuses années (7 ou 8 ans pour une trentaine d'entre eux) ce qui explique le nombre assez important de réactions négatives. Dans tous les cas où elle a été pratiquée, la réaction de Mantoux a aussi été négative ;

c) que chez tous les allergiques spontanés anciens, notre réaction fut toujours très positive (sauf dans un cas), mais dans ces cas, la réaction très positive de la « bague » est moins impressionnante que la réaction très positive du Mantoux à 50 unités.

Comparaison des résultats obtenus chez le même sujet avec la « bague » et l'intra-dermo-réaction de Mantoux à 50 unités.

Nous avons fait cette double réaction chez 118 sujets pris au hasard. Et nous signalons en passant la difficulté qu'il y a, au cours d'une consultation de B.C.G., de multiplier les réactions. Les parents affolés ne ramènent pas leurs enfants à la lecture.

Les résultats peuvent alors être résumés ainsi :

ESSAI DE COMPARAISON ENTRE BAGUE (tuberculine brute) et le MANTOUX à 50 unités						
	Total	+++	++	+	+?	0
Réactions strictement concordantes	91	5	11	47	13	15
Mantoux un peu plus intense que la bague	20		3	14	3	
Mantoux légèrement plus faible que la bague	7		1	5	1	
Mantoux positif et bague négative		0	0	0	0	0

De ces faits on peut donc conclure :

a) que dans 77 % des cas, la concordance a été absolue entre notre méthode de la bague et le Mantoux à 50 unités ;

b) que dans 16 % des cas, le Mantoux a été très légèrement plus positif et que dans 7 % des cas au contraire, la comparaison joue en faveur de la bague. Mais dans tous les cas, les différences ont été extrêmement minimes. Il s'agit de nuances que nous n'avons notées que pour essayés d'être précis ;

c) que jamais nous n'avons rencontré de tests à la bague négatif avec un Mantoux positif. C'est peut-être là, le point le plus intéressant de notre statistique.

En définitive et en nous basant sur ces premiers résultats, nous pensons pouvoir affirmer que cette réaction est extrêmement simple et qu'elle a une sensibilité analogue à une intra-dermo-réaction à 50 unités.

M. DESPIERRES conclut :

« Tels sont les faits que nous voulons rapporter. Je sais bien que beaucoup de critiques peuvent nous être opposées. Je sais qu'en particulier on nous dira : « Pourquoi encore une nouvelle méthode alors qu'il y en a déjà beaucoup ? Laquelle faut-il employer ?

Peut-être peut-on répondre alors que s'il y a tant de méthodes, c'est qu'aucune n'est parfaitement satisfaisante. Notre unique but est de donner au médecin un procédé simple, sensible, et de faciliter sa tâche. Nous pensons un peu y être parvenus. »

Après intervention de MM. MEYER, HERRENSCHMIDT, CHARPIN, FREDUR, plusieurs notions importantes allaient se dégager de cette séance du 12 mai 1962.

a) Malgré toutes ses qualités, la bague tuberculinique n'était pas encore assez sensible. En employant une tuberculine à 100 000 U.I./ml, les réactions étaient encore trop faibles et contrairement à l'opinion de M. DESPIERRES, MM. MEYER et NICO estimaient que cette sensibilité était inférieure à une intra-dermo-réaction à 10 unités.

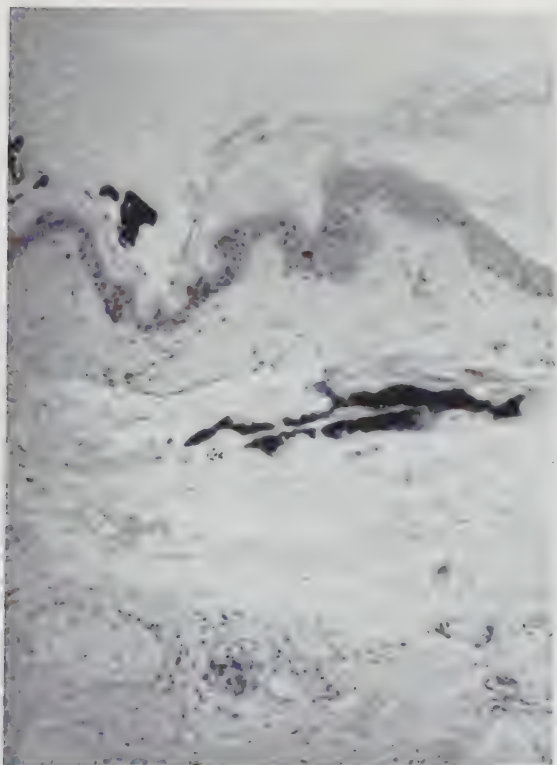
Nous avons par la suite répondu à cette objection en utilisant de la néo-tuberculine à 300 000 U.I./ml.

b) Supériorité de la bague chargée préalablement en réactif liquide par comparaison à la bague nue cherchant à inoculer plus ou moins exactement au travers d'une goutte de tuberculine.

D'où l'avantage de notre dispositif pour bague prête à l'emploi.

c) A sensibilité égale, supériorité de la bague sur l'intra-dermo-réaction de Mantoux qui exige une piqûre apeurant les enfants.

III. A l'occasion de la publication présentée par nous-mêmes le 15 mai 1963, devant la Société Française de Thérapeutique et de Pharmacodynamie, nous avons projeté des photographies de coupes anatomo-pathologiques effectuées sur cadavre par M. TUAILLON



Dans le cliché (grossissement X 100) : une dose d'encre de Chine s'est placée précisément dans le derme juste en-dessous de la couche muqueuse de Malpighi. On voit que notre bague dépose précisément l'allergène dont elle est chargée, là où il faut.

IV. C'est en partie à M. GRAVELEAU, médecin assistant au Service de Pédiatrie du professeur LAPLANE, à l'hôpital BROUSSEAU, que nous devons la mise au point définitive de la bague tuberculinique. Voici une analyse du travail final qu'il a présenté au Congrès de Pédiatrie à Athènes en septembre 1934 (19).

GRAVELEAU a tuberculiné à la bague 249 enfants, dont l'allergie cutanée tuberculinique était supposée positive, en pratiquant simultanément une intra-dermo-réaction à 10 et/ou 50 unités.

1. — Les résultats globaux ont été les suivants :

a) Vérification de l'allergie tuberculinique après vaccination B.C.G. ancienne ou récente : **194 cas.**

— Toutes réactions positives	162 cas
— Toutes réactions négatives	22 cas
— Réactions discordantes ou douteuses	10 cas

b) Vérification d'allergie tuberculinique spontanée connue : **55 cas.**

— Toutes les réactions ont été positives.

2. — Comparaison de la taille des papules dues aux intra-dermo-réaction (I.D.) et à la bague (B).

a) Comparaison entre I.D. 50 et B en cas de vérification de B.C.G. : **150 cas.**

Soit $R = \frac{\text{Diamètre de la papule I.D.}}{\text{Diamètre de la papule B}}$

Nous avons obtenu les résultats suivants :

$R = 1$ à 1,5	59 cas	39,4 %
$R = 1,5$ à 2,5	61 cas	40,0 %
$R > 2,5$	30 cas	20 %

b) Comparaison entre I.D. 10 et B.

Les résultats se décomposent en 30 vérifications de B.C.G. :

$R = 1$	21 cas
$R < 1$	2 cas
$R > 1$	7 cas

55 virages spontanés :

R = 1 à 1,5	19 cas
R = 1,5 à 2,5	24 cas
R > 2,5	12 cas

3. — Résultats discordants 10 fois

(Vérification de B.C.G.)

I.D. 50 négative et B positive	= 7 cas
I.D. 10 positive et B négative	= 1 cas
I.D. 10 positive et B douteuse	= 1 cas
I.D. 10 2 mm et B négative	= 1 cas

On peut dire schématiquement que la papule de la bague est de taille légèrement inférieure à celle de l'I.D. 10 et franchement inférieure à celle de l'I.D. 50.

Après ces résultats, GRAVELEAU expose les avantages indiscutables de la bague :

- facilité du geste et de la lecture,
- limites très nettes de la papule,
- absence de réaction douteuse,
- pas de traumatisme.

GRAVELEAU pense avoir trouvé réunies les deux qualités exigées de toute méthode biologique : sensibilité et fidélité. Il conclut sur l'utilisation des tests tuberculiniques.

« Nous utilisons les tests de la manière suivante. Le timbre tuberculinique est un moyen de dépistage, souvent posé par les mères, ou les auxiliaires médicaux, avant la consultation médicale. La bague est une méthode de contrôle dans le cabinet médical. L'intra-dermo-réaction est réservée à l'arbitrage des discordances entre les deux autres. Un seul test peut suffire avant la vaccination B.C.G. et pour contrôler la positivité de celui-ci. Deux tests sont indispensables pour affirmer la négativité post-vaccinale ou un virage spontané. Lorsque cet ensemble de précautions est pris, le coefficient d'erreurs peut être pratiquement réduit à zéro. »

V. Pour finir sur cette mise au point clinique de notre bague tuberculinique, nous analyserons les travaux de Mme FILLASTRE, à la station-pilote B.C.G. du Centre International de l'Enfance.

Au cours des premiers essais effectués avec divers expérimentateurs nous avons employé la bague de Kravitz, importée des U.S.A., modifiée par nos soins (réservoir) que nous chargions en tuberculine brute codex à 100 000 U.I./ml. Les résultats avaient été assez favorables mais on avait remarqué que la conservation de ces bagues prêtes à l'emploi était mauvaise. En effet, la tuberculine se desséchait assez rapidement dans « le tuyau » et la hauteur de produit réparti diminuait d'une manière évidente.

Pour remédier à cet inconvénient on eut l'idée d'utiliser de la tuberculine hyperglycérinée, pratiquement « à siccité ». Pour cela on fit appel à la néotuberculine qui est justement une tuberculine anhydre à 300 000 U.I./ml et contenant 6 p. 1 000 de tuberculoprotéines.

Cette tuberculine anhydre fut diluée au tiers en glycérine pure pour ramener son titre à 100 000 U.I./ml et à 2 p. 1 000 de tuberculoprotéines. Plus de 600 bagues sont ainsi confiées à Mme FILLASTRE.

Les résultats de l'essai effectué le 8 février 1963 à Vitry (lecture le 12 février), portaient sur un grand nombre de sujets, 144 garçons et 104 filles). On a trouvé une correspondance certaine entre la bague et la réaction de Mantoux, 2 unités + Tween (correspondant à une I.D.R. à 10 U.I. sans Tween). Mais 30 fois la bague a été absolument négative, alors que l'intra-dermo était nettement positive, de 5 à 22 mm d'induration.

Si on établit l'histogramme (reproduit page 55), on s'aperçoit que dans cette expérience on a :

a) une répartition classique pour l'intra-dermo (colonne hachurée). Il y a une haute colonne de sujets négatifs (induration de 0 à 1 mm = 51 sujets), puis plus rien à 2 et 3 mm. Les sujets positifs (5 mm et au-delà) se répartissent selon une courbe de Gauss ;

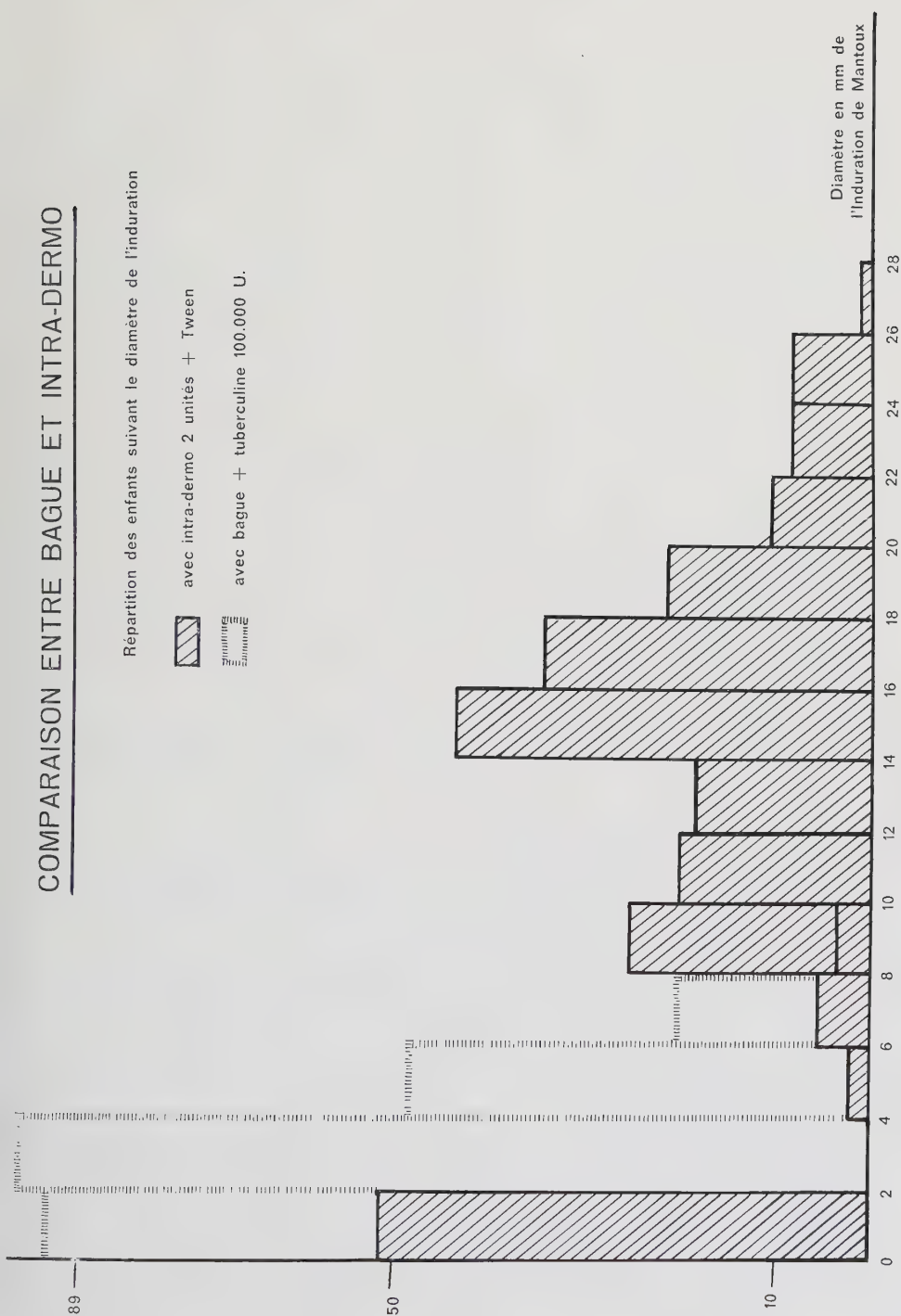
b) une répartition plus difficile à interpréter pour le test à la bague. Cette répartition est celle qui est observée pour la classique cuti-réaction et on pose alors la question : Quel est le seuil de positivité ?

Pour MM. DESPIERRES, GRAVELEAU et pour d'autres expérimentateurs et utilisateurs de notre bague, le fait qu'il y ait une réaction à la bague même très minime (1 à 2 mm d'induration), signifie que la tuberculation a été positive ; chaque fois qu'on en a fait le contrôle par I.D. 10 ou I.D. 50 ou B.C.G. test, ces épreuves ont toujours confirmé ce qu'annonçait la bague.

COMPARAISON ENTRE BAGUE ET INTRA-DERMO

Répartition des enfants suivant le diamètre de l'induration

- avec intra-dermo 2 unités + Tween
- avec bague + tuberculine 100.000 U.



(C.I.E. Vitry - février 1963)

VI. Parce qu'il y avait eu des échecs avec la bague chargée de tuberculine hyper-glycérinée à 100 000 unités/ml, nous avons progressivement augmenté la teneur en tuberculino-protéines de nos bagues. Après de nombreux essais, nous nous sommes arrêtés à la néo-tuberculine, tuberculine pratiquement déshydratée, titrant 300 000 U.I./ml et 6 p. 1 000 de tuberculo-protéines.

Dès ce moment, la bague a pu être considérée comme étant parfaitement au point et une nouvelle expérience conduite par la station-pilote du B.C.G. au Centre International de l'Enfance en a montré la valeur.

Le 24 avril 1964, 254 sujets d'âge scolaire ont été testés avec :

- la bague à un bras,
- et l'intra-dermo 10 unités à l'autre bras.

Les lectures ont été opérées le 28 avril :

a) 20 tests prévacinaux

- 18 sujets sont négatifs aux 2 tests
- 1 sujet est positif aux 2 tests :

Allergie naturelle : bague = 10 mm
I.D. = 21 mm

— 1 sujet à une intra-dermo négative et 2 mm d'induration à la bague

b) 229 tests postvacinaux

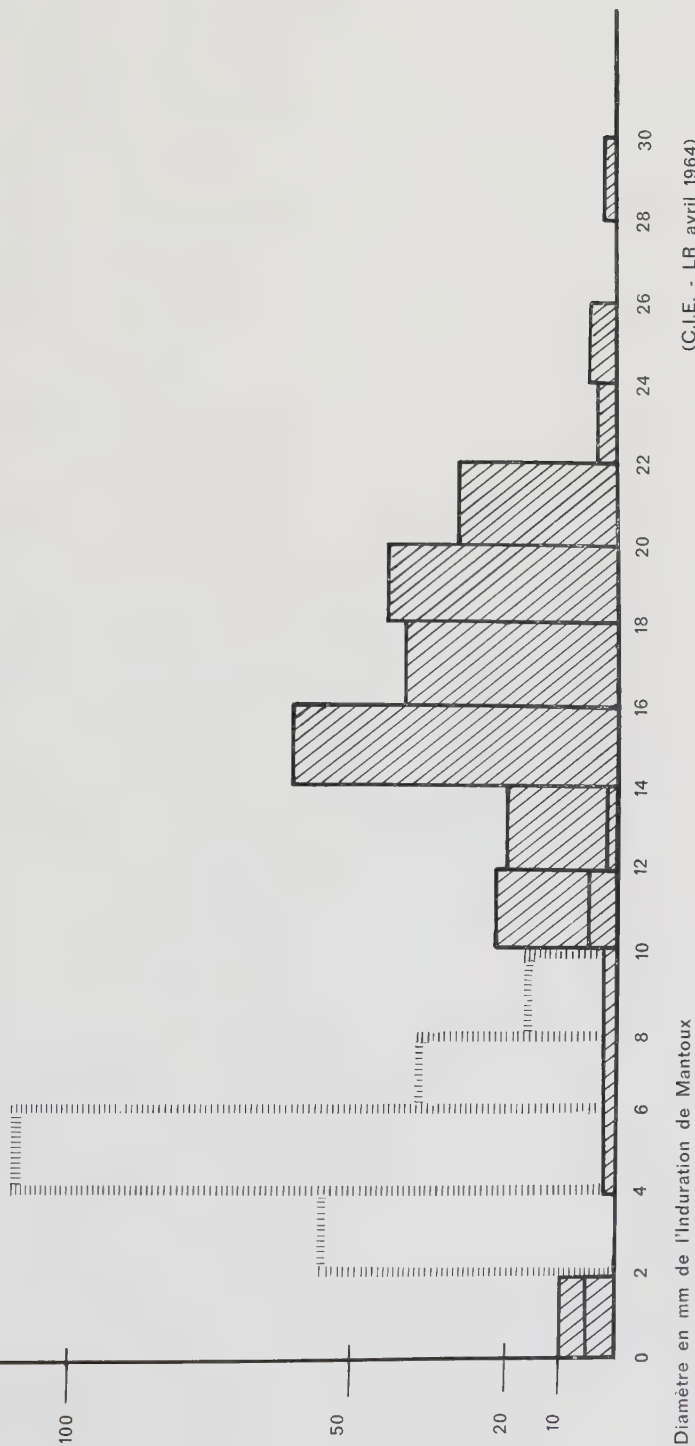
- 217 sujets sont positifs aux 2 tests
 - 3 sujets sont négatifs aux 2 tests
 - 7 sujets ont une intra-dermo négative
- et une bague positive (moyenne d'induration 2,8 mm)
- 1 sujet a 5 mm aux 2 tests
 - 1 sujet a une bague négative et 15 mm d'induration à l'intra-dermo.

Pour les 229 sujets, les moyennes d'induration sont :

- avec la bague : 4,8 mm
- avec l'intra-dermo : 15,3 mm.

Le coefficient de corrélation entre ces 2 tests est très significatif ($z = 0,54$).

Répartition des enfants suivant le diamètre de l'induration



(C.I.E. - LR avril 1964)

L'histogramme obtenu montre cette fois une très belle répartition en courbe de Gauss (page 57).

Bien entendu, cet histogramme est décalé par rapport à celui fourni par l'intra-dermo. C'est ainsi qu'avec la bague, le plus grand nombre des réagissants a une induration de 4 à 6 mm tandis qu'avec l'intra-dermo, le plus grand nombre des réagissants a une induration de 14 à 16 mm, c'est-à-dire trois fois plus importante.

En fonction de ces ultimes résultats, nous sommes persuadés que notre bague tuberculinique est parfaitement au point, qu'elle est fidèle (pas de fausses réactions) et sensible (elle détecte toutes les allergies tuberculiniques).

Deux reproches risquent de lui être adressés :

a) Réactions trop violentes chez les sujets hypergiques. Chose curieuse alors que déjà plusieurs centaines de milliers de bagues ont été employées, aucune réaction excessive n'a encore été portée à notre connaissance. D'ailleurs ces réactions sont toujours beaucoup moins violentes que si l'on avait utilisé l'intra-dermo-réaction de Mantoux.

b) Réactions trop persistantes. Nous avons pu constater que la réaction « à la bague » persistait plus longtemps que l'intra-dermo. Mais la plupart des utilisateurs considèrent que c'est-là un avantage permettant de « lire » la réaction du 4^e au 7^e ou même 10^e jour.

BAGUE ET VACCINATION ANTI-VARIOLIQUE

La vaccination antivariolique est obligatoire en France depuis plus de 60 ans (loi de 1902) et, malgré cela, nous avons assisté à de nombreuses épidémies, comme celles de 1952 qui causa 75 décès et de 1955, 87 cas mortels. Il s'avère donc plus que jamais nécessaire de vacciner, et de bien vacciner, comme l'indique BENENSON dans son rapport (4) présenté lors du Symposium International sur la vaccination antivariolique et que nous pouvons ainsi résumer :

1. Nécessité d'employer un vaccin antivariolique de titre élevé, résistant à la chaleur et aux transports défectueux.

2. Nécessité à chaque vaccination ou revaccination de faire un geste efficace engendrant l'immunité. Ce geste doit entraîner la multiplication virale au niveau de la vaccination.

3. Cette multiplication virale doit être contrôlée du 7^e au 9^e jour après l'inoculation. Elle se traduit par une lésion du type majeur (induration, érythème ou inflammation persistante entourant une lésion centrale pouvant être soit une croûte, soit une pustule).

4. En l'absence de lésion majeure au 7^e jour, il faut immédiatement revacciner avec un bon vaccin et une bonne technique. Convoyer de nouveau le sujet 7 jours plus tard et revacciner une nouvelle fois en l'absence de lésion majeure.

5. Se méfier des réactions allergiques qui se traduisent par une rougeur dont la surface maximum apparaît durant les 3 premiers jours qui suivent la vaccination. Ces réactions allergiques témoignent :

- soit d'une immunité totale,
- soit, le plus souvent, d'une vaccination mal faite (mauvais vaccin ou mauvaise technique d'inoculation).

6. Grâce à des dispositifs mécaniques en cours d'étude en 1962, on espère que le problème de la technique d'inoculation (avec un bon vaccin) sera résolu.

Nous avons adopté pour l'étude de la bague chargée du vaccin antivariolique le même plan que pour la bague tuberculinique : nous envisagerons la préparation du vaccin antivariolique et ensuite l'expérimentation.

A. — PRÉPARATION DU VACCIN ANTIVARIOLIQUE

C'est un vaccin antivariolique glycérimé : on part du broyat de lambeaux épidermiques d'une éruption cutanée de vaccine recueillis à la curette sur les flancs rasés d'une génisse saine, inoculée depuis 5 jours avec du virus vaccinal. Nous utilisons comme virus d'ensemencement, le virus souche Lister. La majorité des germes sont détruits par addition d'eau phéniquée. Le broyat phéniqué (pulpe brute purifiée par centrifugation différentielle) incorporé à 4 ou 5 parties de glycérine à 50 %, constitue le vaccin antivariolique glycérimé.

Contrôle des bagues chargées de vaccin antivariolique

Après avoir été chargées en vaccin antivariolique, ces bagues devront répondre aux divers contrôles. Une bague sur cent sera prélevée afin d'effectuer des contrôles chimiques, bactériologiques et d'activité.

a) **Contrôle du phénol résiduel** : ce taux devra être inférieur à 0,40 g pour cent.

b) **Contrôles bactériologiques** : l'examen bactériologique devra confirmer l'absence des germes pathogènes : E. Coli-Streptocoque hémolytique - Staphylocoque-Bacillus anthracis - Clostridium tetani. Ce sera la numération aérobie des contaminants vivants, après dilution dans un solvant spécial (chlorure de sodium, amidon soluble, eau distillée). Chaque dilution est ensemencée sur boîtes de gélose nutritive. Après 72 heures à 22° C et 48 heures d'étuve à 37° C, on calcule le nombre de bactéries vivantes d'après le nombre de colonies visibles sur les boîtes. La teneur bactérienne doit être inférieure à 1 000 germes par ml.

c) **Contrôle d'activité** : il se pratique sur lapin, 0,3 ml de dilution à 1/10 000 inoculé par grattage à un lapin, sur une plaque cutanée de 20 cm², devra donner une pustule par cm².

Nous nous permettrons d'insister sur l'importance de la conservation de la bague vaccin antivariolique à la température la plus basse possible.

B. — EXPÉRIMENTATION DE LA BAGUE-VACCIN ANTI-VARIOLIQUE

Nous analyserons les divers résultats cliniques qui, encore inédits, ont été aimablement mis à notre dispositton.

I. Nous ne reviendrons pas sur la publication de KRAVITZ qui a eu lieu en octobre 1960 devant l'Académie américaine de Pédiatrie à Chicago, et que nous avons reproduite dans notre historique (30, 66).

II. Le 16 août 1963, YOUNG, médecin aux Limited States Forces, soulignait le bon accueil auprès des enfants du Monovacc (dénomination américaine de la bague antivariolique). Il signalait le nombre important de réactions positives et la facilité des diverses opérations.

« Nous pensons que la technique de vaccination au Monovacc est très utile aussi bien pour nos adultes que pour les sections de vaccination des enfants. Non seulement on augmente le nombre des réactions positives, mais on diminue le temps nécessaire pour vacciner chaque sujet. Etant donné que nous réalisons plus de mille vaccinations par jour, cette économie de temps est hautement appréciable. Nous recommandons par les voies officielles l'adoption du Monovacc pour notre centre d'immunisation. »

III. Déjà en février 1962, M. ANDLAUER avait vacciné 364 sujets adultes avec un vaccin jennérien, dont le titre au moment de l'emploi nous était resté inconnu. Dans cet essai, on a cherché à comparer l'efficacité de la scarification au vaccinostyle classique avec celle de la multipression à la bague effectuée au-travers d'une goutte de vaccin préalablement déposée sur la peau. Dans les deux cas, il s'agissait du même vaccin. La lecture fut effectuée une semaine plus tard le 19 février 1962 : 340 sujets seulement se sont présentés.

	RÉACTION POSITIVE		RÉACTION D'IMMUNITÉ		RÉACTION NÉGATIVE	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Scarification 129 sujets	86	66	15	11	28	21
Bague 210 sujets	61	29	47	22	102	48

Les conclusions de M. ANDLAUER ont été les suivantes :

« Les disparités entre les résultats des lectures sont dues aux critères utilisés.

- Ont été considérées comme positives les réactions présentant une pustule.
- Ont été considérées comme négatives celles qui présentaient seulement un petit érythème inférieur à 1 mm de diamètre, ou rien.
- Comme réactions d'immunité celles qui, sans être pustuleuses, présentaient un érythème plus large que 1 mm.

La difficulté principale a été le contrôle des réactions d'immunité des vaccinations par bague, qui souvent très petites ont été classées par défaut en réactions négatives. Il reste à définir le contrôle des réactions d'immunité des vaccinations par bague, et à démontrer que les personnes qui la présentent sont réellement suffisamment immunisées. »

Quoique, à priori, cette expérience paraisse défavorable à la vaccination par la bague, nous soulignons que l'on a employé un vaccin de titre probablement médiocre et que l'on a effectué un seul impact de bague, alors que l'on pratiquait de larges scarifications.

IV. Avec le concours de M. LARBRE, nous avons expérimenté en octobre 1962 notre bague en utilisant deux vaccins A et B. Presque tous les enfants étaient des primo-vaccinés, mais certains avaient déjà reçu, sans succès, une scarification jennérienne. L'inoculation a été faite à la bague (deux impacts distants de quelques cm) ou au vaccinostyle (deux traits espacés de quelques cm). Voici les résultats lus une semaine plus tard

a) Avec le vaccin A

Bague

ENFANT			SE PRÉSENTE POUR LA			LÉSION		OBSERVATIONS
Nom	Prénom	Age	1 ^{re} fois	2 ^e fois	3 ^e fois	1 ^{er} impact	2 ^e impact	
AB...	Benasisa	1 an		+		pustule	pustule	fièvre - diarrhée
BE...	Pascal	2 ans		+		pustule	pustule	+ 40° C anorexie
DA...	Catherine	9 mois	+			pustule	pustule	peu de fièvre
FA...	Patrick	11 ans			?	R. d'immunité		Revaccination
RO...	Patrick	7 mois		+		pustule	rougeur	R.A.S.
VI...	Patrick	2 ans		+		R. d'im.	zéro	R.A.S.
PE...	Nadine	1 an	+			pustule	pustule	pas de fièvre
SA...	Catherine	7 mois				pustule	pustule	R.A.S.
YO...	Malek	8 mois				pustule	pustule	fièvre, anorexie

Scarification (2-3 mm de longueur)

MA...	Guillaume	9 mois		+		pustule	pustule	fièvre, anorexie
ME...	Nadine	1 an	+			pustule	zéro	R.A.S.
ST...	Laurice	1 an			+	pustule	pustule	inflam. (leucopl.)
TA...	Christine	7 mois	+			pustule	pustule	agitation

b) Avec le vaccin B

ENFANT			SE PRÉSENTE POUR LA	MODE D'INOCULATION	RÉSULTATS
Nom	Prénom	Age			
DE...	Pascale	15 mois	2 ^e fois	SCA	Néant
IN...	Eric	1 an	1 ^{re} fois	SCA	Néant
MA...	...	19 mois	1 ^{re} fois	SCA	Néant
AI...	Eric	21 mois	1 ^{re} fois	Bague	Néant
AI...	Philippe	2 1/2 ans	2 ^e fois	Bague	Néant
RO...	Sylvie	7 mois	1 ^{re} fois	Bague	Néant
SE...	Chantal	7 mois	1 ^{re} fois	Bague	Néant
SE...	Monique	20 mois	1 ^{re} fois	Bague	Néant
BE...	Guy	8 ans	1 ^{re} fois	Bague	Néant
BE...	Hubert	14 ans	1 ^{re} fois	Bague	Néant
RO...	Maurice	4 1/2 mois	1 ^{re} fois	Bague	Néant

Commentaires

- Il est à noter que le vaccin B, sans doute à cause d'une mauvaise conservation, ne donnait aucune prise ni avec la bague, ni par scarification.
- Avec le vaccin A de titre élevé comme nous l'avons vérifié, nous avons pu obtenir 11 réactions typiques sur 12 primo-vaccinés.
- L'importance de la maladie vaccinale observée au cours de cet essai provient d'une certaine pathogénicité de la souche du vaccin A et du fait que nous ayons pratiqué deux impacts ou deux scarifications.

Au cours de cet essai, nous avons pu remarquer que l'efficacité des deux procédés d'inoculation étaient comparables. Toutefois, avec la bague, les pustules obtenues étaient plus petites, bien rondes, tandis qu'avec le vaccinostyle, les pustules étaient plus étendues et susceptibles, par conséquent, de laisser une cicatrice plus importante.

- Mais la supériorité incontestée de la bague a été mise en évidence durant la séance de vaccination : pas de cris et pas de larmes, avec la bague ; apeurement et pleurs avec le vaccinostyle.

V. A la fin du même mois d'octobre, nous avons expérimenté deux autres vaccins, dans les mêmes conditions que précédemment, les résultats sont portés dans les tableaux de la page suivante :

a) Avec vaccin A

Bague

ENFANT			SE PRÉSENTE POUR LA			LÉSION		OBSERVATIONS
Nom	Prénom	Age	1 ^{re} fois	2 ^e fois	Rev.	1 ^{er} impact	2 ^e impact	
FE...	Daniel	8 mois		+		pustule	pustule	+ 38°6 C
GA...	Jean	3 mois	+			pustule	zéro	fièvre vomis.
GU...	Philippe	5 mois	+			pustule	zéro	R.A.S.
MA...	Mylène	5 1/2 mois		+		zéro	zéro	
ME...	Pascal	6 1/2 mois		+		pustule	pustule	+ 38. C
BL...	Claude	9 mois		+		pustule	zéro	R.A.S.
HE...	Danielle	6 mois	+			zéro	zéro	
JA...	Jean-Marc	10 1/2 m.	+			pustule	pustule	R.A.S.
JU...	Michel	4 mois	+			pustule	pustule	diarrhée
X...	Nadia	7 mois	+			pustule	pustule	fièvre diarrh.
QU...	Serge	14 mois	+			pustule	pustule	R.A.S.
RO...	Fabienne	8 mois		+		pustule	pustule	peu de fièvre

Scarification

BA...	Philippe	7 mois	+			pustule	pustule	R.A.S.
BU...	Corinne	4 mois		+		pustule	zéro	R.A.S.
CO...	Pascale	13 mois		+		pustule	zéro	R.A.S.
FA...	Eric	9 mois	+			pustule	petite lésion	R.A.S.
GA...	Patricia	22 mois	+			pustule	zéro	R.A.S.
MI...	...	18 mois	+			pustule	pustule	dissémin. virale
NE...	...	1 an	+			pustule	pustule	R.A.S.
SI...	Thierry	8 mois	+			pustule	zéro	R.A.S.

b) Avec vaccin B (bague)

CO...	François	3 ans	+			pustule	zéro	fièvre anorexie
GIA...	Dominique	5 mois	+			zéro	zéro	
MAI...	Pierre	4 mois	+			zéro	zéro	
THO...	Françoise	15 mois	+			pustule	pustule	R.A.S.

Commentaires

- Le vaccin A avait une virulence élevée comme l'ont montré les titrages. On a obtenu pour 24 impacts à la bague, 17 pustules ; pour 16 vaccinations au vaccinostyle, 11 pustules ; le pourcentage général de primo-vaccinations réussies étant de 90 %.
- A remarquer que les deux échecs de primo-vaccinations ont été observés chez des enfants de 6 mois.
- Il faut constater également qu'il n'y a parfois qu'un seul inoculum qui prend, alors que l'on pratique deux impacts ou deux scarifications. Nous pensons que cela est dû à un rhabillage hâtif qui « essuierait » le vaccin.
- Le titre du vaccin B, insuffisant comme l'ont montré les titrages, explique les deux échecs sur les 4 vaccinations de la série.

VI. Avec un vaccin antivariolique produit par nos laboratoires, nous nous sommes rendus à Saint-Etienne en mars 1965, où M. BRE-GÈRE avait bien voulu nous permettre d'assister à une séance de vaccination et à la lecture des résultats, une semaine plus tard. Nous avons observé les résultats suivants.

	NOM	SEXE	AGE	PRIMO	REVAC.	LÉSION OBS.
1	BE...	M	7 mois	+		Pustule
2	BO...	M	11 mois	+		Pustule
3	CA...	M	1 an	+		Pustule (2° essai)
4	CA...	F	51 ans		+	Pustule
5	CH...	F	4 mois	+		Zéro
6	CH...	F	8 mois	+		Pustule (vomissement)
7	CO...	M	15 ans		+	R. majeure (vaccinoïde)
8	DR...	F	17 ans		+	R. majeure (vaccinoïde) (fatigue)
9	FA...	F	13 mois	+		Pustule
10	FL...	M	13 mois	+		Pustule (fièvre)
11	IE...	F	18 ans		+	R. majeure (vaccinoïde)
12	IS...	M	7 mois	+		Pustule
13	PO...	F	16 mois	+		Zéro
14	RI...	F	17 ans	?	?	R. mineure
15	RO...	M	15 mois	+		R. mineure (2° essai)
16	SO...	F	11 mois	+		Pustule

Avec la bague chargée en vaccin de titre élevé, nous avons donc eu :

- pour 11 primo-vaccinés avec 1 seul impact : 8 réactions typiques, 1 réaction mineure chez une soit-disant primo-vaccinée (âgée de 17 ans) qui a été aussitôt revaccinée, 1 échec chez 1 enfant de 4 mois, et un véritable échec chez une fille de 16 mois ;
- pour 4 revaccinés, chez lesquels nous avons pratiqué 2 impacts au même endroit, nous avons eu 1 pustule type primo-vaccinal et 4 lésions majeures du type vaccinoïde.

En conclusion, étant entendu que le vaccin antivariolique liquide est de conservation limitée et qu'il vaudrait mieux faire appel à un vaccin lyophilisé, nous avons pu montrer, grâce à des essais malheureusement insuffisants en nombre que :

- La bague vaccinale donne un excellent pourcentage de prise chez les primo-vaccinés, pourvu que le vaccin ait un titre suffisant au moment de l'emploi.
- Un seul impact à la bague suffit pour ces primo-vaccinations.
- Un impact redoublé au même endroit (2×9 pressions) donne d'excellents résultats pour les revaccinations.
- Cette bague antivariolique a l'avantage de présenter la vaccination sous forme « prête à l'emploi », assurant ainsi l'asepsie rigoureuse du geste.
- Ce nouveau mode d'inoculation est mieux apprécié par les enfants, par les médecins et leurs assistants qui n'ont plus à supporter les cris des jeunes patients.

AUTRES APPLICATIONS
DE LA MULTIPONCTURE

Dans la première communication française sur la bague en 1961 (43), Charles MÉRIEUX avait mentionné son utilité pour la détection de l'allergie tuberculinique, mais avait également évoqué l'application probable à la vaccination antituberculeuse, aux vaccinations de rappel antidiphtérique, antitétanique.

Ce sont ces différents sujets que nous voudrions rapidement parcourir.

A. — VACCINATION ANTIDIPHTÉRIQUE

Nous envisagerons la vaccination de rappel et l'étude de la réaction de Schick à la bague.

a) Vaccination de rappel

Nous reproduisons dans le tableau ci-joint nos premiers résultats, dont le nombre est, certes, trop limité. L'expérimentation a été faite avec la collaboration du Médecin-Colonel COLOBERT.

Pour cette expérience, on avait employé de l'anatoxine diphtérique brute lyophilisée, titrant 30 unités par ml. Chaque lyophilisat de 1 ml a été repris, soit avec 0,5 ml d'eau physiologique, de telle manière qu'une goutte = 3 unités, soit avec 0,25 ml d'eau physiologique, de telle manière qu'une goutte = 6 unités.

On avait posé sur les dents de la bague une goutte de l'une ou l'autre préparation, et les impacts avaient été faits sur la région deltoïdienne.

Pour la préparation à 3 unités par goutte :

- 4 sujets ont eu 1 impact,
- 2 sujets ont eu 3 impacts.

Pour la préparation à 6 unités : 9 sujets ont reçu 4 impacts.

Nom du sujet Date de naissance	Date de la vaccination antérieure	1 ^{re} prise de sang 3 juin 1961 titrage de l'antitoxine pré-existante en U.A./ml	Application de l'anatoxine 3 juin 1961 dilution du lyophilisat avec 1/2 ou 1/4 ml (3 U. ou 6 U./goutte)	2 ^e prise de sang 15 jours après de 17 juin 1961 titrage de l'antitoxine en U.A./ml	Réactions locales ou générales	Résultats
X... JACQUES 27-10-1928	A l'armée il y a 18 mois	0,80	1 impact au 1/2	1	R.A.S.	Bon effet de rappel
X... ÉTIENNE 1-10-1924	1942	0,20	1 impact au 1/2	1	R.A.S.	Bon effet de rappel
X... RENÉ 13-5-1907	1928	0,20	1 impact au 1/2	2	R.A.S.	Très bon effet de rappel
X... BENJAMIN 24-1-1906	1927	0,20	1 impact au 1/2	0,80	R.A.S.	Rappel
X... CAMILLE 29-3-1914	1932	0,80	3 impacts au 1/2	1	R.A.S.	Bon effet de rappel
X... HENRY 22-2-1906	1924	0,80	3 impacts au 1/2	1	R.A.S.	Bon effet de rappel
X... LOUIS 26-2-1901	1921	0,40	4 impacts au 1/4	2	R.A.S.	Très bon rappel
X... ROMAIN 30-12-1905	1925 1926 1927	0,40	4 impacts au 1/4	1	R.A.S.	Bon rappel
X... FRANÇOIS 9-4-1904	1924	0,02	4 impacts au 1/4	1	R.A.S.	Bon rappel
X... PAUL 31-3-1914	1934	0,20	4 impacts au 1/4	1	R.A.S.	Bon rappel
R... JULES 14-7-1917	1937 1945	0,20	4 impacts au 1/4	0,80	R.A.S.	Rappel
B... CLÉMENT 23-7-1914	1936 1939	0,80	4 impacts au 1/4	4	R.A.S.	Excellent rappel
B... CLAUDE 11-6-1923	1940	0,20	4 impacts au 1/4	4	R.A.S.	Excellent rappel
B... GEORGES 10-8-1912	1932	0,80	4 impacts au 1/4	4	R.A.S.	Excellent rappel
L... ANDRÉ 16-1-1928	1945 1950	0,04 0,04	4 impacts au 1/4 4 impacts au 1/4	0,80 0,80	Légère démangeaison et rougeur	Rappel

Commentaires

1. Tous les sujets expérimentés étaient d'anciens vaccinés. Leurs sérum contenait 0,20 à 0,80 unité d'antitoxine lors de la première prise de sang et avant toute application d'anatoxine. Etant donné qu'on admet qu'avec 0,03 unité d'antitoxine circulante l'immunité antidiphthérique est suffisante (Réaction de Schick négative) on voit que nos 15 sujets étaient tous dûment protégés.

2. L'application percutanée d'anatoxine brute à l'aide de la bague a entraîné une montée d'anticorps :

- bonne pour dix d'entre eux,
- très bonne pour deux d'entre eux,
- excellente pour trois d'entre eux.

Ces derniers correspondent à l'emploi d'une anatoxine plus concentrée et inoculée par 4 impacts.

Aucune réaction ni locale ni générale n'a été signalée ; seul le sujet 15 a présenté le lendemain de l'application d'anatoxine un léger prurit avec rougeur de très courte durée.

Il est inutile de souligner l'intérêt de la bague pour la vaccination de rappel, méthode rapide et commode.

b) Réaction de Schick

La réaction décrite par SCHICK en 1913 (59, 60) est destinée à évaluer l'immunité antidiphthérique d'un sujet donné. Elle consiste à inoculer par voie intradermique 0,10 ml ou 0,20 ml d'une toxine diphtérique brute ou purifiée, mais de toute façon diluée et à observer dans les jours qui suivent la réaction provoquée par cette inoculation. Si le sujet possède de l'antitoxine circulante, il neutralise cet inoculum et, localement, on n'observera rien. Si, au contraire, le sujet est réceptif à la diphtérie, il sera incapable de neutraliser la faible dose de toxine inoculée et une réaction plus ou moins importante se manifestera.

Bien qu'ayant une très grande importance en épidémiologie, immunologie appliquée, et oto-rhino-laryngologie, la réaction de Schick est peu employée, non seulement par suite du matériel nécessaire à une intra-dermo-réaction, mais également par suite de la qualité de la toxine. Seuls quelques spécialistes pratiquent cette réaction.

Nous avons cherché à mettre au point une réaction à la bague qui soit comparable à la réaction de Schick. Nous sommes orientés vers une toxine concentrée, lyophilisée, reprise en eau physiologique tamponnée et diluée en glycérine à 50 %.

L'expérimentation qui a porté sur une quinzaine de lapins a montré une équivalence entre la Réaction de Schick classique 1/30 de DMM (dose minimum mortelle pour le cobaye) et la bague chargée de toxine diphtérique titrant jusqu'à 3 000, 5 000 et même 7 000 DMM.

Le tableau suivant résume la dernière expérimentation.

	LAPIN 12.7 lecture 2 jours	LAPIN 12.6 lecture 4 jours
Schick 1/20 DMM	20×15 mm	18×15 mm
Bague 6 700 DMM	15×13 mm	19×16 mm
Bague 6 150 DMM	19×16 mm	19×16 mm
Bague 5 700 DMM	19×19 mm	15×15 mm
Bague 5 300 DMM	14×14 mm	15×14 mm
Bague 4 600 DMM	16×13 mm	17×15 mm
Bague 4 100 DMM	16×12 mm	16×15 mm

Si l'on se base sur la lecture à 4 jours, la bague chargée avec 6 000 DMM de toxine diphtérique, donne sensiblement la même réaction que l'intra-dermo-réaction avec 0,10 ml de toxine de Schick-Sclavo.

Il est évident que ces essais effectués sur lapins semblent difficilement applicables à l'homme, par suite de la trop forte concentration de la toxine.

B. — VACCINATION ANTITÉTANIQUE

Nous nous sommes exclusivement intéressés à la vaccination de rappel antitétanique par la bague.

Dès 1941 (10), les auteurs américains signalaient que l'injection intra-dermique d'anatoxine tétanique donnait d'aussi bons, voire de meilleurs résultats, que l'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire.

De nombreuses communications sur ce même sujet survinrent, et l'une d'entre elles (63) préconisa, il y a 7 ans, des rappels annuels de 0,1 ml d'anatoxine tétanique, afin de maintenir l'immunité du sujet à un niveau élevé.

En 1959, Charles MÉRIEUX (42) recommanda à son tour d'effectuer les rappels de vaccination antitétanique par voie intra-dermique appuyant ainsi une publication française de fraîche date (5). On trouvera enfin une bibliographie extrêmement complète sur l'immunisation active contre le tétanos sous toutes ses formes dans le remarquable travail publié en 1959 par REGAMEY (48).

Nous avons voulu réexaminer tous les faits. Mais sachant bien que le matériel et la technique des inoculation intra-dermiques ne sont, finalement, pas tellement répandus, nous avons mis en œuvre pour nos essais la bague de Kravitz modifiée afin de la rendre prête à l'emploi et chargée en anatoxine tétanique concentrée.

1^{er} cas : micro-vaccination de sujets présumés dépourvus de toute immunité antitétanique.

La technique de titrage des anticorps antitétaniques dans le sérum des sujets est extrêmement sensible et précise. On peut rechercher le millième, voire le dix-millième d'unité antitoxique par ml de sérum. Toutefois, en nous reportant à tout ce qui a été publié sur ce sujet, nous avons considéré que les personnes ayant 0,002 unité internationale ou moins, par ml de sérum, devaient être tenues comme n'ayant jamais été vaccinées. Sept adultes ayant 0,002 U.I./ml de leur sérum ont donc reçu notre micro-vaccination. Quinze jours à un mois plus tard, le titre en antitoxine de ces 7 sujets n'avait absolument pas varié.

Un huitième sujet qui avait aussi un titre de 0,002 unité au moment de la micro-vaccination, un mois plus tard avait un titre de 0,1 unité. Il n'y a aucun doute que dans ce cas, nous nous sommes trouvés en présence d'un sujet ayant une certaine immunité de base, qui n'a pu être mise en évidence que par l'effet très marqué d'un micro-rappel.

Le titre en antitoxine tétanique du sérum des sujets, quand il est très bas (0,002) ne signifie pas obligatoirement que de telles personnes n'aient jamais été vaccinées. A notre avis, seule une inoculation expérimentale de rappel avec l'anatoxine permet de départager les sujets dépourvus de toute immunité d'une part et les sujets ayant quelque passé, quelque souvenir immunitaire d'autre part.

2^e cas : micro-vaccination de sujets ayant une certaine immunité antitétanique préalable (rappel).

Chez de tels sujets, le tableau ci-dessous démontre l'efficacité du micro-rappel.

N°	Nom	Titre du sérum avant micro-vaccination de rappel (U.I. antitoxique par ml)	Délai écoulé entre la 1 ^{re} et la 2 ^e prise de sang	Titre du sérum après le micro-rappel (U.I. antitoxique par ml)
1	J. D.	0,01	1 mois	1
2	G. J.	0,02	1 mois	0,2
3	S. T.	0,2	1 mois	0,5
4	M. M.	0,2	1 mois	0,5
5	L. D.	0,2	14 jours	1
6	P. B.	0,2	1 mois	1
7	G. G.	0,5	14 jours	2
8	C. L.	0,5	1 mois	2
9	L. G.	0,5	1 mois	3
10	M. T.	1	1 mois	2
11	J. G.	1	1 mois	2
12	M. D.	3	1 mois	5
13	J. L.	4	1 mois	5
14	A. D.	7	1 mois	10

A côté de ces 14 succès, on a eu 3 échecs : sujets titrant avant micro-vaccination 0,01, 0,5 et 1 U.I./ml et dont le titre du sérum était le même un mois après le rappel.

Ces résultats encourageants incitent à poursuivre les essais. Actuellement, on travaille avec une anatoxine tétanique un peu plus concentrée. Dans ces conditions, on sait déjà que les micro-rappels sont plus efficaces et on espère qu'il n'y aura plus d'échec.

C. — VACCINATION ANTITUBERCULEUSE

L'inoculation par piqûres multiples du B.C.G. en Angleterre avec l'appareil de HEAF (3, 18, 20, 21, 22, 34, 35), aux Etats-Unis avec le dispositif de ROSENTHAL amélioré par Birkhaug (7, 8, 9, 50, 51, 52, 55), est en train de devenir pratique courante en remplacement de l'intra-dermo-inoculation à l'aiguille ou des scarifications. Le but est d'obtenir un pourcentage maximum de virages tuberculiniques avec un pourcentage d'incidents locaux tendant vers zéro.

Grâce à deux expérimentations inédites, aimablement communiquées, nous avons pu nous faire une opinion provisoire sur la vaccination antituberculeuse à la bague.

I. En novembre 1963, Mme FILLASTRE compare les deux voies d'introduction du B.C.G. lyophilisé : multiponcture et intradermique.

Deux études ont été effectuées avec les résultats suivants :

a) Tests pré vaccinaux et contrôles, 10 semaines avec intradermo-réaction tuberculine brute lyophilisée 10 U.I./0,10 ml.

48 sujets vaccinés.

- 24 par piqûres multiples,
- 24 par intradermique.

	BAGUE	I.D.	
Taux d'allergie	75 %	100 %	Dif. ++
Diamètre des indurations de Mantoux	8,3 mm	11,5 mm	Dif. ++
% des types I et II	4,2 %	17,6 %	

b) Tests pré vaccinaux et contrôles, 10 semaines avec intradermo-réaction et tuberculine purifiée PPD RT 23 à 2 unités + Tween 80

46 sujets vaccinés :

- 22 par piqûres multiples,
- 24 par intradermique.

	BAGUE	I.D.	
Taux d'allergie	77,3 %	91,7 %	Dif. ++
Diamètre des indurations de Mantoux	9,9 mm	14,6 mm	Dif. ++
% des types I et II	12 %	45,5 %	Dif. ++

Ces deux premiers essais ne sont donc pas très favorables à la bague. Précisons que :

- a) Pour les intra-dermiques, on a employé un vaccin lyophilisé titrant environ 500 000 éléments vivants/dose ;
- b) pour la multiponcture, il a été fait appel à un vaccin beaucoup plus riche titrant environ 5 000 000 éléments vivants/dose ;
- c) la technique de multiponcture a été la suivante :
« sur le bras de l'enfant on a mis 3 gouttes de B.C.G. concentré. On a étalé avec une baguette de verre puis on a donné trois coups de bague soit 27 piqûres. »

Nous pensons que la bague chargée aurait été plus efficace, qu'il aurait fallu redoubler l'impact au même point, recharger éventuellement la bague et faire un nouvel impact redoublé tout près du premier.

II. M. DESPIERRES rapporte dans son étude de mars 1965, les essais de vaccination B.C.G. à la bague :

« Quelques vaccinations ont été pratiquées au moyen de la bague chez 14 jeunes filles de 18 à 27 ans et chez 2 nourrissons de 6 à 8 mois. Le vaccin utilisé a été le vaccin de l'Institut Pasteur B.C.G-S : vaccin frais pour scarifications, dose à 75 mg/ml réparti en plusieurs gouttes sur la région deltoïdienne. Le nombre d'impacts par la bague a varié selon les sujets vaccinés. La vérification de l'allergie tuberculinique a été effectuée par cuti-réaction à la tuberculine brute le 49^e jour après la vaccination (soit dans un délai un peu plus court — 7 semaines au lieu de 10 — que dans les deux expériences précédentes).

Les résultats se présentent ainsi :

Noms	Nombre de points d'impact	Réaction locale	Incidents	Cuti-réaction au 49 ^e jour
A. Monique	4	+	0	+
C. Jacqueline	4	+	0	+
D. Françoise	5	+	0	+
D. Michelle	5	+	0	+
E. Maryse	4	+	0	+
		très faible		
J. Simone	4	+	0	+
				faible
M. Josette	4	+	0	+
M. Christiane	4	+	0	+
Q. Régine	5	+	0	+
M. Jeanine	5	+	0	+
M. Annie	5	+	0	+
F. Simone	4	+	0	0
		très faible		
T. Marie-Antoinette	4	+	0	+
D. Berthe	4	+	0	+
C. J.-Pierre	2	+	0	+
B. Joseph	2	+	0	+

A noter que la seule réaction tuberculinique négative après vaccination a été constatée chez une jeune fille de 27 ans, déjà deux fois vaccinée depuis l'âge de 20 ans, sans résultats.

Commentaires

a) Les réactions post-vaccinales locales ont toutes été très faibles. Il persistait au 50^e jour, à chaque point d'impact de la bague, un petit nodule variant de 2 à 4 mm de diamètre. Il n'y a pas eu d'ulcération, pas de ganglions axillaires.

b) Les réactions tuberculiniques de contrôle ont été nettes, une seule a été de faible intensité, une a été négative.

c) Il semble qu'il faille faire pour cette technique vaccinale :

- 2 impacts chez le nourrisson,
- 3 impacts chez l'enfant de 6 ans,
- 4 impacts chez l'enfant de 12 ans,
- 5 impacts chez l'adulte.

d) Cette méthode paraît parfaitement valable, notamment en ce qui concerne la faible intensité des réactions vaccinales locales.

CONCLUSIONS

1. La technique de la multiponcture a trouvé son expression la plus séduisante avec une bague en matière plastique, hérissée de 9 pointes, présentée aux Etats-Unis par KRAVITZ. La modification originale que nous lui avons apportée permet, tout en protégeant les pointes de la bague, d'adapter un tuyau contenant le produit à inoculer, mettant ainsi à la disposition du médecin un ensemble prêt à l'emploi.

2. Nous avons montré les deux applications essentielles de cette méthode :

- tuberculination : les expérimentations cliniques nous ont amené à utiliser une tuberculine concentrée à 300 000 unités/ml ;
- vaccination antivariolique : nous avons utilisé un vaccin antivariolique glycérimé, souche Lister.

3. Des perspectives nouvelles, qui demandent encore un supplément d'expérimentation, s'offrent à cette méthode : vaccination de rappel contre la diphtérie et le tétanos, vaccination antituberculeuse.

Vu, le Doyen :
J. F. CIER

Le Président de la Thèse :
Professeur DORCHE

Le Recteur Président du Conseil de l'Université :
P. LOUIS

VU et permis d'imprimer
LYON, le 9 Juin 1965

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSEN (S. R.), SMITH (M. H. D.). — The Heaf Multiple Puncture Tuberculin Test. *A. M. A. J. Dis. Child.*, **99**, 764/769, 1960.
2. BADGER (T. L.), BREITWIESER (E. R.), MUENCH (H.). — Tuberculin Tine Test Multiple-Puncture Technique compared with PPD-S Intermediate Strength (5 T.U.). *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **87**, 338/353 (March), 1963.
3. BELL (W. J.). — Percutaneous Multiple Puncture inoculation of freedzedried BCG. *Brit. J. Dis. Chest.*, **56**, 11/16, 1962.
4. BENENSON (A. S.). — Revaccination against Smallpox. Symposium international sur la vaccination antivariolique, Lyon, 7-9 décembre 1962. Ed. Institut Mérieux, 1963.
5. BERNARD (G.), SERVANT (P.). — Intérêt du rappel vaccinal intradermique par l'anatoxine tétanique. *Presse Méd.*, **66**, 1999, 1958.
6. BESSON (A.), DASSONVILLE (R.). — *Bull. Acad. nat. Méd. (Paris)*, **134**, 711/712, 1950 ; **137**, 261/263, 1953.
7. BIRKHAUG (K.). — *Nord. Méd.*, **10**, 1224, 1941.
8. BIRKHAUG (K.). — A Spring-actuated Multiple Puncture Apparatus for BCG Vaccination. *Amer. J. Clin. Path.*, **17**, 751/754 (sept.), 1947.
9. BIRKHAUG (K.). — A detachable spring-actuacued Multiple Puncture Apparatus for BCG Vaccination. *Amer. J. Clin. Path.*, **19**, 492/95, 1949.
10. BLATT (F.), FISCHER and VAN GELDEK. — *Amer. J. Dis. Child.*, **61**, 88, 1941.
11. BROWN (A. R.). — Acupuncturation instrument. U.S. Patent n° 84.854. Dec. 15, 1868.
12. CAPOBRES (D. B.), TOSH (F. E.), YATES (J. L.), LANGELETTIG (H. V.). — Experience with the Tuberculin Tine Test in a Sanatorium. *J.A.M.A.*, **180** (13), 1130/1132, 1952.
13. CRIMM (P. D.). — Comparison of Tuberculin, Tine and Mantoux tests with X-ray correlation. Scientific Exhibit presented at the Annual Meeting of the National Tuberculosis Association, Deauville Hotel, Miami Beach (Florida), May 20-23, 1952. Scientific Exhibit presented at the Annual Meeting of the American Academy of Pediatrics, Palma House, Chicago (Illinois), 29 octobre, 1^{er} novembre 1952.
14. DALMAIS (A.). — Un nouveau procédé de recherche de l'allergie tuberculinique : la bague monostest. Etude comparée avec la cuti par scarification. Réunion des Services de Médecine du Travail de Lyon et de Strasbourg, juin 1963. *Archives Mat. Prof.*, **23** (L-2), 60/61, 1964.
15. DESPIERRES (G.), MÉRIEUX (Ch.). — Sur une méthode de contrôle de l'allergie tuberculinique plus simple et aussi sûre que la classique intradermoréaction. XI^e Congrès National de Tuberculose, Porto Alegre (Brésil), 12-18 novembre 1961.
16. DESPIERRES (G.), MÉRIEUX (Ch.). — Un nouveau test tuberculinique simple et sensible. XI^e Congrès National de Tuberculose, Porto Alegre (Brésil), 12-18 novembre 1961.
17. DESPIERRES (G.), MÉRIEUX (Ch.), TRIAU (R.), ENSELME (J.). — Un nouveau procédé simple et précis de recherche de l'allergie tuberculinique. *Rev. Tuberc. (Paris)*, **26** (4), 514/519, 1962.
18. DIEU (J.-C.), DESBIEZ (M.-H.). — Etudes comparatives du monostest, de la cuti, de l'I.D. 10, du néotest (à paraître).
19. GRAVELEAU (D.). — Standardisation de la multipuncture. Application à la Tuberculine : le monostest. Communication au IV^e Congrès de Pédiatrie du Moyen-Orient et de la Méditerranée. Athènes, 27-30 septembre 1964.
20. GRIFFITHS (M. I.), BRINDLE (T. W.), GORDON (E. H.), HOLME (T.), JONES (B.). — Multiple-Puncture vaccination with freeze-dried BCG vaccine in school children. *Brit. Med. J.*, vol. I, 536/540, 1961.
21. GRIFFITHS (M. I.). — Multiple-Puncture vaccination in the Newborn with freeze-dried BCG vaccine. *Brit. Med. J.* vol. II, 1116/1119, 15 octobre 1960.

22. GRIFFITH (A. H.). — BCG vaccination by multiple Puncture. *The Lancet*, **1**, 6 juin, 1170/72, 1959.
23. HEAF (F.). — The Multiple Puncture Tuberculin Test. *The Lancet*, **2**, 28 juillet, 151/153, 1951.
24. HEAF (F.). — Multiple Puncture Tuberculin Test. *Tubercle (Lond.)*, **31**, décembre, 335, 1953.
25. IRVINE (N. K.). — Observations on the Heaf Multiple-Puncture Test. *Tubercle (Lond.)*, **36**, janvier, 21/22, 1935.
26. JENNER (Ed.). — « An Inquiry into the causes and effects of the Variolae Vaccinae, a disease discovered in some of the Western Counties of England, particularly Gloucestershire and known by the name of Cowpox. » London : Sampson, Low, p. 13, 1793.
27. JENNER (Ed.). — Letter to the Reverend William Pruen of Fladbury, 14 janvier 1822.
28. KEMPE (C. H.). — Smallpox Vaccination and plastic scarifer. *J.A.M.A.*, **190** (1), 87, 1965.
29. KRAVITZ (H.), LETTVIN (N.). — Means for vaccinating. U.S. Patent n° 2.817.336, 24 décembre 1957.
30. KRAVITZ (H.). — A simplified technique for vaccination against Smallpox Pediatrics, **27** (2), 219/226, 1961.
31. LEAKE (J. P.). — Questions and answers on Smallpox and vaccination. *Public Hlth Rep.*, **42**, 221, 1927.
32. LEFAUX (R.). — Chimie et Toxicologie des matières plastiques. Compagnie Française d'Éditions, 40 rue du Colisée, Paris (19^e), 1964.
33. LINCOLN (E. M.), SADILI (E. V.). — Comparison of intradermal PPD-S, PPD-B and a new intradermal dried Tuberculin Test. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **84**, 128, 1961.
34. LORBER (J.). — Freeze-dried BCG vaccination of newborn infants by the multiple puncture method. *Tubercle (Lond.)*, **40**, 21/25, 1959.
35. LORBER (J.). — Freeze-dried BCG vaccination by the multiple puncture method. *The Journal of the Singapore Poediatric Society*, **3**, (2) 37/43, octobre 1961.
36. LYNCH (H. J.), TOSH (F. E.), DOTO (I. L.), PLACE (V. A.), FURCOLOW (M. L.). — A comparison of the intradermal intermediate PPD reaction with the Tuberculin Tine Test in 5.066 adults and children. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **81**, (abst.), 128, July 1961.
37. MAHA (G. E.). — Comparative study of Tuberculin Tine and Mantoux Tests in 676 College Students. *J.A.M.A.*, **182**, 304/305, 20 octobre 1962.
38. MÉRIEUX (Ch.). — Préparation d'une tuberculine spéciale pour percuti-réaction. *Société de Pathologie Comparée*, 10 janvier 1939.
39. MÉRIEUX (Ch.). — Applications nouvelles de la percuti-réaction. Thèse Doctorat Médecine, Fac. Méd. et Pharm. Lyon, n° 238, 12 juillet 1939.
40. MÉRIEUX (Ch.). — Perspectives nouvelles de la percuti-réaction à la tuberculine, par le perfectionnement du timbre Kfour. *Rev. Path. Comparée*, n° 573/574, 355, 1946.
41. MÉRIEUX (Ch.). — Sur trois méthodes de percuti-réaction à la Tuberculine. Communication à la Société de Pédiatrie de Lyon, janvier 1948.
42. MÉRIEUX (Ch.), MÉRIEUX (J.). — Comment faciliter la pratique de la vaccination contre le tétanos et l'identification des sujets correctement vaccinés. *Path. Biol.*, **7**, 1947, 1959.
43. MÉRIEUX (Ch.). — Sur une méthode simplifiée d'administration des divers antigènes et vaccins. Premières applications à la Tuberculine et à l'Anatoxine diphtérique. III^e Congrès International des Microbiologistes hongrois. Budapest, 3-5 octobre 1961.
44. MÉRIEUX (A.), TRIAU (R.), GALY (M.). — Standardisation biologique de la multipuncture dans l'application des allergènes et des vaccins. *Thérapie*, XVIII, 1243/1246, 1963.
45. PARISH. — *Brit. Med. J.*, **11**, 781, 1944.
46. PARISH (H. J.), CANNON (D. A.). — *Antisera, Toxoids, Vaccines and Tuberculins in Prophylaxis and Treatment*. 6^e édition. E. et S. Livingstone Ltd, Edinburgh and London, 1962.
47. REES (R.J.W.). — *Lancet* **2** - 1948 - 1943.
48. REGAMEY (R. H.). — L'immunisation active contre le tétanos. *Ergebn. Mikrobiol.*, **32**, 270, 1959

49. ROBINS (A. B.), DALY (J. N.). — Evaluation of the Heaf Tuberculin Test. *New Engl. J. Med.*, **262** (20), 1008/1012, May 19, 1960.
50. ROSENTHAL (S. R.). — Multiple puncture method of BCG vaccination. *Amer. Rev. Tuberc.*, **39**, 128/134, janvier 1939.
51. ROSENTHAL (S. R.). — Vaccination au moyen d'antigène en poudre (desséché après congélation) et de plaquette à piqûres multiples : bacille de Calmette et Guérin (BCG). *Ann. Inst. Pasteur*, **74**, (6) 497/503, 1948.
52. ROSENTHAL (S. R.). — BCG Vaccination against Tuberculosis. London, J. & A. Churchill, 1957.
53. ROSENTHAL (S. R.). — Disc-Method Tuberculin Test. *Amer. Rev. Tuberc.*, **77**, 778/788, May 1958.
54. ROSENTHAL (S. R.). — The disk-Tine Tuberculin Test (dried tuberculin disposable unit). *J.A.M.A.*, **177** (6), 196/198, 1961.
55. ROSENTHAL (S. R.), LOEWINSOHN (E.), GRAHAM (M. L.), LIVERIGHT (D.), THORNE (M. G.), JOHNSON (V.), BATSON (H. C.). — BCG Vaccination against Tuberculosis in Chicago. *Pediatrics*, **28** (4), 622/641, octobre 1961.
56. RUSSELL (W. F.), LYNCH (H. J.), DOTO (I. L.), FURCOLOW (M. L.), BRASHER (C. A.), CAPOBRES (D. B.), TOSH (F. E.), LANGELOTTIG (H. V.), YATES (J. L.), RASMUSSEN (D. L.), PLACE (V. A.), COOPER (M. S.), HINES (D. W.). — Comparison of Tuberculin Skin Reactions : Tine-test, VS. Intracutaneous. Scientific Exhibit presented at the Annual Meeting of the A.M.A. Coliseum, New York City, June 26-30, 1961.
57. SALLINEN (P.). — Tuberculin Test according to Trambusti. *Nord. Med.*, **39**, 1682/1683, 1948.
58. SALLINEN (P.). — The Finnish intradermic tuberculin test. *Acta Tuberc. Scand.*, **36**, 265/276, 1959.
59. SCHICK (B.). — La réaction de Schick. *Congresso della Soc. Tedesco Pediat. Munster*, 1912.
60. SCHICK (B.). — *Münch. Med. Wschr.*, **60**, 2608, 1913.
61. SEATON (Ed. C.). — *A Handbook of Vaccination*, 1868.
62. SOHIER (R.). — Intradermo-réaction tuberculinique à l'aiguille. Résultats obtenus avec un instrument à pénétration automatique réglable. *Ann. Inst. Pasteur*, **78**, 286/288, 1950.
63. SPAET (T. H.). — *Nebraska Med. J.*, **41**, 224, 1958.
64. TRAMBUSTI (B.). — *Boll. Ist. Sierotherap. Milanese*, **7**, 371/385, 1928.
65. TRAMBUSTI (B.). — *Riv. Di Clin. Pediat.*, **27**, 241/246, 1929.
66. TRIAU (R.), ENSELME (J.), MÉRIEUX (A.). — Vaccination antivariolique et technique de Kravitz. C. R. Symp. sur la vaccination antivariolique. Lyon, 6-9 décembre 1962.

